

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN KEMANGI (*Ocimum sanctum L*) TERHADAP BAKTERI PATOGEN DENGAN METODE KLT BIOAUTOGRAFI



SKRIPSI

Diajukan untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Meraih
Gelar Sarjana Farmasi Jurusan Farmasi
Pada Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
UIN Alauddin Makassar



Oleh:

AGUSTIANTO LUKMAN
NIM. 70100112024

FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI ALAUDDIN MAKASSAR

2016

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Mahasiswa yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Agustianto Lukman
NIM : 70100112024
Tempat/TanggalLahir : Balabatu, 8 agustus 1994
Jur/Prodi/Konsentrasi : Farmasi
Alamat : BTN Zaimdah permai Blok Q14
Judul : Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun kemangi (*Ocimum sanctum* L) terhadap bakteri patogen dengan metode KLT Bioautografi

Menyatakan dengan sesungguhnya dan penuh kesadaran bahwa skripsi ini benar adalah hasil karya sendiri. Jika di kemudian hari terbukti bahwa ia merupakan duplikat, tiruan, plagiat, atau dibuat oleh orang lain, sebagian atau seluruhnya, maka skripsi dan gelar yang diperoleh karenanya batal demi hukum.

Samata-gowa, Oktober 2016

Penyusun,

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
ALAUDDIN
M A K A S S A R
AGUSTIANTO LUKMAN
NIM. 70100112024

PENGESAHAN SKRIPSI

Skripsi yang berjudul “Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun kemangi (*Ocimum sanctum* L) terhadap bakteri patogen dengan metode KLT” yang disusun oleh Agustianto lukman, NIM : 70100112024, Mahasiswa Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Alauddin Makassar, diuji dan dipertahankan dalam Ujian Sidang Skripsi yang diselenggarakan pada hari..... 2016 M yang bertepatan dengan **(Kalender Islam Berapa)**, dinyatakan telah dapat diterima sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana dalam Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Jurusan Farmasi.

Gowa, _____ **M**
H

DEWAN PENGUJI

Ketua	:	(.....)
Sekretaris	:	(.....)
Pembimbing I	:. Mukhriani S.Si., M.Si., Apt	(.....)
Pembimbing II	: Andi Tenriugi S.Si., M.Si.	(.....)
Penguji I	:.	(.....)
Penguji II	:	(.....)
Pelaksana		(.....)

Diketahui oleh:
Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan
UIN Alauddin Makassar,

Dr. dr. H. Andi Armyn Nurdin,
M.Sc
NIP. 19530203 198312 1 001

KATA PENGANTAR



Assalamualaikum Warahmatullahi Wabarakatu.

Segala puji dan syukur alhamdulillah penulis panjatkan kepada **ALLAH SWT** atas segala rahmat dan hidayah-Nya yang telah diberikan sehingga skripsi ini dapat terselesaikan. Skripsi ini merupakan salah satu syarat memperoleh gelar sarjana pada Jurusan Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.

Shalawat serta salam semoga tercurah atas Nabi kita **MUHAMMAD SAW**, yang termulia dari para Nabi dan Rasul. Dan semoga pula tercurah atas keluarganya, sahabatnya dan para pengikutnya hingga akhir zaman.

Penghargaan yang setinggi-tingginya dan rasa terima kasih penulis persembahkan kepada kedua orang tua tercinta Ayahanda **Drs Lukman** dan Ibunda **Suherah S.pd** yang tak henti-hentinya memberi do'a dan motivasi serta dukungannya baik dalam bentuk moril terlebih lagi dalam bentuk materil, sehingga tugas akhir ini dapat terselesaikan dengan baik karena kasih sayang dan bimbingan beliau, dan buat keluarga saudaraku tercinta Intan Ilahiyad Zahmi Asis, Serta seluruh keluarga besar penulis yang tidak dapat penulis sebut satu persatu, terima kasih atas do'a, kasih sayang dan bimbingannya kepada penulis, tiada kata yang pantas untuk mengungkapkan betapa besar cinta dan kasih sayang yang telah kalian berikan. Mereka adalah semangat terbesar bagi penulis untuk

menyelesaikan skripsi ini. Semoga Allah SWT senantiasa memberikan rahmat dan perlindungan-Nya kepada kalian.

Penulis tak lupa menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya sebagai ungkapan kebahagiaan kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Musafir Pababbari, M.Si. selaku Rektor Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar yang telah memberikan kesempatan menyelesaikan studi di UIN Alauddin Makassar.
2. Bapak Dr. dr. H. Andi Armyn Nurdin, M.Sc. selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan UIN Alauddin Makassar.
3. Ibu Dr. Nur Hidayah, S.Kep., Ns., M.Kes., selaku Wakil Dekan I Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Alauddin Makassar
4. Ibu Dr. Andi Susilawaty, S.Si., M.Kes., selaku Wakil Dekan II Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Alauddin Makassar.
5. Bapak Dr. Mukhtar Lutfi, M.Pd., selaku Wakil Dekan III Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Alauddin Makassar.
6. Ibu Haeria, S.Si., M.Si., selaku Ketua Jurusan Farmasi UIN Alauddin Makassar Fakultas Ilmu Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Alauddin Makassar
7. Ibu Mukhriani S.Si., M.Si., Apt selaku pembimbing pertama yang telah meluangkan waktu dan pikirannya dalam membimbing penulis dalam penyelesaian skripsi ini.

8. Ibu Andi Tenriugi S.Si., M.Si selaku pembimbing kedua yang telah meluangkan waktu dan pikirannya dalam membimbing penulis dalam penyelesaian skripsi ini.
9. Ibu Hj. Gemy Nastity Handayani., S.Si., M.Si., Apt selaku penguji kompetensi yang telah memberi banyak masukan dan saran demi kesempurnaan skripsi ini.
10. Bapak Prof. Dr. H. Abdul Rahim M.A selaku penguji agama yang telah banyak memberikan tuntunan dan pengarahan dalam mengoreksi seluruh kekurangan pada skripsi ini.
11. Bapak Muh. Fitrah, S.Si., M.Si., Apt Apt selaku penasehat akademik penulis, yang selalu memberikan arahan baik terhadap penulis.
12. Ibu Syamsuri Sakri, S.Farm.,M.Si.,Apt. pelaksana kegiatan ujian akhir, yang telah banyak berusaha dan bekerja keras dalam membantu terselenggarakannya ujian akhir bagi peneliti.
13. Bapak dan Ibu dosen yang dengan ikhlas membagi ilmunya, semoga jasa-jasanya mendapatkan balasan dari Allah swt. serta seluruh staf jurusan Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan yang telah memberikan bantuan kepada penulis.
14. Kepada seluruh Laboran Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Alauddin Makassar.
15. Sahabat Isohidris 2012, yang selama 4 tahun terkahir telah mengukir banyak cerita, tawa dan kisah yang tak akan lekang oleh masa

16. Kepada semua pihak yang telah memberikan bantuan baik moral maupun material hingga skripsi ini dapat terselesaikan, semoga Allah SWT senantiasa memberikan imbalan pahala yang berlipat ganda.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan dan kelemahan. Namun besar harapan kiranya dapat bermanfaat bagi penelitian-penelitian selanjutnya, khususnya di bidang farmasi dan semoga bernilai ibadah di sisi Allah swt. Amin Ya Rabbal Alamin.

Wassalammu ‘alaikum warahmatullahi wabarakatuh.

Samata-Gowa, Maret 2016

Penyusun

AGUSTIANTO LUKMAN

NIM. 70100112024

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
ALAUDDIN
M A K A S S A R

DAFTAR ISI

JUDUL	i
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI.....	ii
PENGESAHAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
DAFTAR TABEL.....	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
ABSTRAK	xvii
BAB I PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Rumusan Masalah	2
C. Defenisi Operasional dan Ruang Lingkup Penelitian	3
D. Kajian Pustaka.....	4
E. Tujuan Penelitian	5
F. Manfaat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
A. Uraian Tanaman	6
1. Klasifikasi.....	6
2. Morfologi Tanaman.....	6
3. Kandungan Kimia.....	7
4. Kegunaan.....	7

B. Uraian Mikroba uji.....	8
1. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8
a. Klasifikasi.....	8
b. Morfologi.....	8
2. <i>Staphylococcus aureus</i>	8
a. Klasifikasi.....	8
b. Morfologi	9
3. <i>Staphylococcus epidermidis</i>	9
a. Klasifikasi.....	9
b. Morfologi.....	10
4. <i>Bacillus subtilis</i>	10
a. Klasifikasi.....	10
b. Morfologi.....	11
5. <i>Escherichia coli</i>	11
a. Klasifikasi.....	11
b. Morfologi.....	11
6. <i>Salmonella typhi</i>	11
a. Klasifikasi.....	11
b. Morfologi.....	12
7. <i>Streptococcus mutans</i>	12
a. Klasifikasi.....	12
b. Morfologi.....	12

8. <i>Vibrio Sp</i>	13
a. Klasifikasi.....	13
b. Morfologi.....	13
C. Metode Ekstraksi	14
1. Cara Dingin.....	14
a. Maserasi.....	14
1). Modifikasi maserasi melingkar.....	15
2). Modifikasi maserasi digesti.....	15
3). Modifikasi maserasi melingkar bertingkat.....	16
b. Perkolasi.....	16
2. Cara panas.....	16
a. Refluks.....	16
b. Soxhlet.....	17
c. Digesti.....	17
d. infuse.....	17
e. Dekok.....	17
D. Metode Pemisahan Secara Kromatografi Lapis Tipis	17
E. KLT-Bioautografi	18
a. Bioautografi Langsung.....	19
b. Bioautografi kontak.....	20
c. Bioautografi pencelupan.....	20
F. Sterilisasi	20
1. Sterilisasi fisik.....	20
a. Pemanasan basah.....	20

1). Perebusan	20
2). Pemanasan dengan tekanan.....	21
3). Tindalisasi.....	21
4). Pasteurisasi.....	21
b. Pemanasan kering.....	22
c. Sterilisasi radiasi	22
2. Sterilisasi Mekanika	22
3. Sterilisasi kimia	23
a. Desinfeksi.....	23
b. Antiseptis	23
G. Antimikroba	24
1. Pengertian Antimikroba.....	24
2. Sifat antimikroba.....	24
a. Bakteriostatik.....	24
b. Bakteriosida.....	24
3. Prinsip Kerja Antimikroba.....	24
4. Mekanisme Antimikroba	25
a. Mengganggu metabolisme sel mikroba.....	25
b. Penghambatan sintesis dinding sel.....	25
c. Penghambatan terhadap fungsi membrane sel.....	26
d. Penghambatan terhadap sintesis protein.....	26
e. Penghambatan terhadap sintesis asam nukleat.....	27
H. Tinjauan Islam	27
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	
A. Jenis dan Lokasi Penelitian	30

1. Jenis Penelitian	30
2. Lokasi Penelitian	30
B. Pendekatan Penelitian	31
C. Sampel.....	31
D. Instrumen penelitian	31
1. Alat Yang Digunakan	31
2. Bahan Yang Digunakan	31
E. Teknik pengolahan dan analisis data.....	32
1. Pengambilan sampel.....	32
2. Pengolahan sampel	32
3. Ekastraksi sampel	32
4. Sterilisasi alat	32
5. Penyiapan bakteri uji	33
6. Skrining aktivitas antibakteri.....	33
7. Pemisahan senyawa secara kromatografi lapis tipis	33
8. Pengujian secara KLT-Bioautografi.....	34
9. Identifikasi bercak aktif dengan beberapa penampakan bercak	34
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	
A. Hasil Penelitian	36
B. Pembahasan.....	38
BAB V PENUTUP	
A. Kesimpulan	42
B. Implikasi Penelitian.....	42
KEPUSTAKAAN	43

LAMPIRAN-LAMPIRAN.....	45
DAFTAR RIWAYAT HIDUP.....	



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema Kerja Penyiapan Sampel.....	44
2. Tanaman kemangi	45
3. Skrining anti mikroba	46
4. Profil KLT	47
5. Pengujian KLT	48
6. Identifikasi komponen kimia	52



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Profil KLT Ekstrak etanol daun kemangi	36
2. Pengujian aktivitas antibakteri.....	37
3. Identifikasi komponen kimia aktif.....	38



DAFTAR GAMBAR

Gambar Halaman

1. Gambar daun kemangi.....	47
2. Skrining mikroba	48
3. Profil KLT UV 366.....	49
4. Profil KLT UV 254.....	49
5. Profil KLT H ₂ SO ₄	50
6. Pengujian KLT	53
7. Identifikasi komponen kimia aktif.....	57



ABSTRAK

Nama Penyusun : Agustianto lukman
Nim : 70100112024
Judul Skripsi : Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun kemangi (*Ocimum sanctum L*) terhadap bakteri patogen dengan metode KLT-Bioautografi

Telah dilakukan penelitian tentang uji aktivitas antibakteri ekstrak daun kemangi (*Ocimum sanctum L*) terhadap bakteri patogen dengan menggunakan metode KLT Bioautografi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas dan komponen kimia ekstrak daun kemangi yang memberikan penghambatan terhadap bakteri.

Daun kemangi (*Ocimum sanctum L*) di ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Hasil ekstraksi kemudian di skrining aktivitas antibakteri dengan kadar 1 mg/ml terhadap mikroba uji yakni *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus epidermidis*, *Salmonella typhi*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *vibrio sp*.

Pengujian yang diperoleh menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% daun kemangi dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Salmonella typhi*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *vibrio coma*. Pengujian KLT-Bioautografi ekstrak etanol daun kemangi menggunakan eluen etil asetat: N-heksan (1:3) menunjukkan penghambatan bakteri pada nilai Rf 0,15, 0,31, 0,44. Uji identifikasi menunjukkan bahwa senyawa yang memberikan antibakteri adalah flavonoid, alkaloid dan terpenoid.

Kata kunci : Kemangi, antibakteri , KLT-Bioautografi

ABSTRAK

Nama Penyusun : Agustianto lukman
Nim : 70100112024
Judul Skripsi : Antibacterial activity test extracts of basil (*Ocimum sanctum* L) against pathogens by using KLT-Bioautografi

A research of the antibacterial activity test extracts of basil (*Ocimum sanctum* L) against pathogenic bacteria by using KLT Bioautografi. This study aims to determine the activity and basil leaf extract chemical components are on the inhibition of bacterial.

Basil (*Ocimum sanctum* L) extracted by maceration method using ethanol 70%. Extraction then screened for antibacterial activity with levels of 1 mg / ml against microbes that *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus epidermidis*, *Salmonella typhi*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *vibrio* sp.

Tests showed that 70% ethanol extract of leaves of basil can inhibit the growth of *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Salmonella typhi*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *vibrio* coma. Testing TLC-Bioautografi basil leaves ethanol extract using ethyl acetate eluent: n-hexane (1: 3) showed inhibition of bacteria at Rf values of 0.15, 0.31, 0.44. Identification test showed that the compounds provide antibacterial flavonoids, alkaloids and terpenoids.

Keywords: Basil, antibacterial, KLT-Bioautografi

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Penyakit infeksi masih menempati urutan teratas penyebab penyakit dan kematian di negara berkembang, termasuk Indonesia. Tingginya angka kejadian infeksi dimasyarakat akan menyebabkan penurunan produktifitas nasional secara umum, sedangkan dilain pihak menyebabkan peningkatan pengeluaran yang berhubungan dengan upaya pengobatan

Penanggulangan infeksi bakteri dapat dilakukan dengan memberikan antibiotik, karena antibiotik memiliki peranan penting dalam mengatasi bakteri di dalam tubuh. Pemberian antibiotik saja belum memberikan hasil maksimal dalam upaya mengatasi bakteri. Hal ini dikarenakan setiap bakteri memiliki resistensi yang berbeda terhadap suatu antibiotik. (Pelczar dan Chan 1988) menyatakan resistensi atau kerentanan terhadap infeksi oleh suatu patogen tertentu dapat berbeda-beda dari satu spesies hewan ke yang lain. Oleh karena itu, kekebalan bakteri terhadap suatu antibiotik menyebabkan angka kematian semakin meningkat.

Di Indonesia tanaman obat tradisional mampu membuktikan pentingnya bahan alam untuk berbagai proses pengobatan manusia. Dalam beberapa tahun terakhir, telah terjadi peningkatan minat para peneliti terhadap penggunaan bahan alam sebagai senyawa biologis alam dalam pembuatan obat. Penelitian terbaru difokuskan pada produk tanaman alami atau tanaman obat sebagai alternatif. Tapi mayoritas penduduk pedesaan tidak memiliki akses untuk mendapatkan perawatan kesehatan modern sehingga mereka bergantung pada tanaman obat untuk mencegah atau mengobati penyakit. Pasalnya, tanaman obat lebih murah dan lebih mudah digunakan oleh sebagian besar penduduk.

Hal inilah yang mendorong dilakukannya penelitian untuk, mendapatkan obat baru yang efektif dan relatif aman. Salah satu alternatifnya adalah dengan menggali dan mengembangkan obat tradisional terutama berasal dari bahan alam, dan salah satu tumbuhan herbal yang memiliki khasiat sebagai bahan obat ialah daun kemangi (*Ocimum sanctum L.*).

Di kutip dalam journal International .pharmacy, kemangi dapat mengobati gangguan pada lambung dan hati serta memiliki efek analgesic, antihiperlipidemia dan antioksidan (Musafer Baser.2016). Daun kemangi juga dapat mengobati penyakit kanker seperti kulit, paru-paru, payudara, prostat, leher rahim dan karsinoma mulut (Baby joseph. 2013). Ekstrak kemangi memiliki efek antioksidan, antikanker dan antimikroba (Sarah SM. 2015). Di Indonesia tanaman ini dimanfaatkan sebagai lalapan.

Berdasarkan uraian di atas, untuk meningkatkan penggunaan tanaman sebagai obat, maka dilakukan penelitian Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kemangi Terhadap Beberapa Bakteri Patogen dengan Metode KLT-Bioautografi, untuk mengetahui bakteri yang dapat dihambat oleh ekstrak daun kemangi beserta golongan senyawa yang memberikan efek antibakteri sehingga penggunaan daun kemangi dalam bidang mikrobiologi dapat dipertanggung jawabkan.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian yang telah dipaparkan di atas, maka yang menjadi rumusan masalah dalam penelitian ini adalah :

1. Apakah ekstrak etanol 70% daun kemangi memiliki aktivitas antibakteri terhadap beberapa bakteri patogen?

2. Komponen senyawa aktif apakah yang dapat memberikan efek antibakteri pada ekstrak etanol daun kemangi?

C. Definisi Operasional dan Ruang Lingkup Penelitian

1. Definisi Operasional

- a. Ekstraksi merupakan suatu sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani dengan menggunakan pelarut yang sesuai.
- b. Bakteri patogen merupakan kelompok bakteri parasit yang dapat menimbulkan berbagai macam penyakit pada manusia, hewan, dan tumbuhan.
- c. KLT-Bioautografi merupakan suatu metode pendeteksian untuk menemukan suatu senyawa antimikroba pada fraksi tidak larut n-heksan yang belum teridentifikasi dengan cara melokalisasi aktivitas antimikroba tersebut pada suatu kromatogram

2. Ruang Lingkup Penelitian

Ruang lingkup penelitian ini, hanya membatasi pada bakteri patogen saja, tidak untuk bakteri non-patogen. Kemudian, dari segi metode penelitian yang dilakukan menggunakan metode KLT-Bioautografi untuk mengetahui daya hambat suatu sampel. Penulis tidak menggunakan dua metode atau lebih. Pelarut atau cairan penyari yang digunakan yaitu penyari Etanol.

D. Kajian Pustaka

Dalam kajian pustaka dibahas beberapa temuan hasil penelitian sebelumnya untuk melihat kejelasan arah, originalitas, kemanfaatan, dan posisi dari penelitian ini, dibandingkan dengan beberapa temuan penelitian yang dilakukan sebelumnya

1. Berdasarkan penelitian Nur Atikah (2013) yang berjudul *Uji aktivitas antimikroba ekstrak herba kemangi (Ocimum sanctum L) terhadap Staphylococcus aureus dan Candida albicans* menyatakan bahwa ekstrak etanol 70% daun kemangi memiliki aktivitas antimikroba terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*.
2. Reza Kristiyana (2013) pada penelitiannya *Optimasi penambahan ekstrak etanol daun kemangi sebagai pengganti triclosan dalam menghambat Staphylococcus aureus dan Eschericia coli pada produk sabun cuci tangan air* menyatakan bahwa ekstrak etanol 70% daun kemangi dapat digunakan sebagai pengganti triclosan untuk menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli* pada produk sabuncuci tangan air yakni pada konsentrasi 3%.
3. Sarah SM (2015) *interntional journal of pharma and bio sciences* pada penelitiannya *Estimation of the phytochemical constituents and biological activity of Ocimum sanctum L extracts* menyatakan bahwa ekstrak etanol memiliki zona terbesar inhibisi untuk *Staphylococcus Aures*, *Streptococcus pyogenes* dan *Klebsiella*
4. Banne Raja Cece (2012) pada penelitiannya yang berjudul *Uji Aktivitas Antimikroba ekstrak daun kelor terhadap beberapa bakteri pathogen dengan metode KLT-bioautografi*. Banne raja cece mengambil dasar pada penelitiannya dengan menggunakan metode KLT-Bioautografi untuk mengetahui adanya aktivitas antimikroba dari ekstrak daun kelor serta komponen kimia yang mempunyai aktifitas atibakteri pada ekstrak etanol daun kelor.

Maka dari itu peneliti mengambil penelitian dengan judul Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak daun kemangi (*Ocimum sanctum L*) Terhadap Beberapa Bakteri Patogen Dengan Metode KLT-Bioautografi, karena dari penelitian-

penelitian sebelumnya hanya menggunakan metode kertas cakram bukan KLT-bioautografi dan juga peneliti ingin mengetahui golongan senyawa yang memberikan aktifitas antibakteri pada ekstrak daun kemangi (*Ocimum sanctum L.*).

E. Tujuan dari Kegunaan Penelitian

1. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian yaitu :

- a. Mengetahui aktivitas antibakteri pada daun kemangi
- b. Mengetahui kandungan senyawa kimia dari ekstrak daun kemangi yang memberikan aktivitas antibakteri

2. Kegunaan Penelitian

Adapun kegunaan dari penelitian ini adalah untuk memperoleh data ilmiah mengenai aktivitas antibakteri ekstrak daun kemangi sehingga penggunaannya dapat dipertanggungjawabkan secara ilmiah dan dapat menjadi dasar penggunaan untuk menemukan obat-obat baru yang berguna dalam kehidupan manusia.

BAB II

TINJAUAN TEORITIS

A. *Uraian Tanaman*

1. Klasifikasi Tanaman (Baseer M dan Jain K, 2016)

Kingdom	: Plantae
Sub kingdom	: Tracheobionta
Divisi	: Magnoliophyta
Sub Divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Sub kelas	: Asteridae
Ordo	: Lamiales
Family	: Lamiaceae
Genus	: <i>Ocimum</i>
Spesies	: <i>Ocimum sanctum</i> L.

2. Nama Daerah

Kemangi, kemangen (Indonesia, Jawa), Kamangi (Makassar), Lampes (Jawa Tengah), Uku-Uku (Bali), Lufe-Lufe (Ternate), Suraung (Sunda), Kemanghi (Madura), Lemon basil (Inggris), Basilic citron (Perancis), Maenglak (Thailand).

3. Morfologi (Kusuma, 2012; 6-8)

Tanaman yang banyak tumbuh di daerah tropis ini merupakan herba tegak tinggi 0,3-1,5 m. Batang pokoknya tidak jelas, berwarna hijau sering keunguan, dan berambut atau tidak.

Daun tunggal, berhadapan dari bawah ke atas. Panjang tangkai daun 0,25-3 cm dengan setiap helaian daun yang berbentuk bulat telur sampai elips,

memanjang, dan ujung meruncing atau tumpul. Pangkal daun pasak sampai membulat, di kedua permukaan berambut halus.

Bunga kemangi tersusun pada tangkai bunga berbentuk menegak. Bunganya jenis hemafrodit, berwarna putih dan berbau sedikit wangi. Bunga majemuk berkarang dan di ketiak daun ujung terdapat daun pelindung berbentuk elips atau bulat telur dengan panjang 0,5-1 cm. Kelopak bunga berbentuk bibir, sisi luar berambut kelenjar, berwarna ungu atau hijau dan ikut menyusun buah. Mahkota bunga berwarna putih dengan benang sari tersisip di dasar mahkota dan kepala putik bercabang dua namun tidak sama.

Buah berbentuk kotak, berwarna cokelat tua, tegak, dan tertekan dengan ujung berbentuk kait melingkar. Panjang kelopak buah 6-9 mm. Biji berukuran kecil, bertipe keras, cokelat, dan waktu diambil segera membengkak. Tipe buah terdiri dari empat biji. Akar tunggang dan berwarna putih kotor.

4. Kegunaan

Berdasarkan penelitian-penelitian yang telah dilakukan terhadap kemangi, didapatkan bahwa kemangi berkhasiat sebagai analgesik, anti-amnesik, dan nootropik, anthelmintik, anti bakterial, anti katarak, anti fertilitas, anti hiperlipidemi, anti inflamasi, anti malaria, anti lipidperoksidatif, anti oksidan, anti stress, anti thyroid, antitusif, anti ulkus, kemoprotektif, penyakit kulit, penyakit diabetes, imunomodulator, radioprotektif, aktivitas hipoglikemik, aktivitas hipotensif, dan anti kanker (singh, 2012: 98).

5. Kandungan Kimia

Kemangi mengandung tannin, flavonoid, alkaloid, terpenoid, saponin, glikosida, asam amino primer dan sekunder (Sarah SM, 2015)

B. Uraian Mikroba Uji

1. *Pseudomonas aeruginosa*

a. Klasifikasi

Domain : Bacteria

Filum : Proteobacteria

Kelas : Gammaproteobacteria

Ordo : Pseudomonadales

Famili : Pseudomonadaceae

Genus : *Pseudomonas*

Spesies : *Pseudomonas aeruginosa* (Garrity dkk, 2004: 24,95).

b. Sifat dan morfologi

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri gram negatif dengan berbentuk sel tunggal, batang lurus atau melengkung, namun tidak berbentuk heliks. Pada umumnya berukuran 0,5 – 1,0 µm. Motil dengan flagelum polar, monotrikus atau multitrikus. Tidak menghasilkan selongsong prosteka. Tidak dikenal adanya stadium istirahat. Metabolisme dengan respirasi, tidak pernah fermentatif. Beberapa merupakan kemolitotrof fakultatif, dapat menggunakan H atau CO₂ sebagai sumber energi. Oksigen molekuler merupakan penerima elektron universal, beberapa dapat melakukan denitrifikasi dengan menggunakan nitrat sebagai penerima pilihan (Pelczar dkk, 2008: 952).

2. *Staphylococcus aureus*

a. Klasifikasi

Domain : Bacteria

Filum : Firmicutes

Kelas : Bacilli

Ordo : Bacillales
 Famili : Staphylococcaceae
 Genus : Staphylococcus
 Spesies : *Staphylococcus aureus* (Garrity dkk, 2004:24,187).

b. Sifat dan morfologi

Staphylococcus aureus adalah bakteri gram positif. Sel-sel berbentuk bola, berdiameter 0,5 – 1,5 μm , terdapat dalam tunggal dan berpasangan dan secara khas membelah diri pada lebih dari satu bidang sehingga membentuk gerombolan yang tak teratur. Non motil. Tidak diketahui adanya stadium istirahat. Dinding sel mengandung dua komponen utama yaitu peptidoglikan dan asam teikoat yang berkaitan dengannya. Kemoorganotrof. Metabolisme dengan respirasi dan fermentatif. Anaerob fakultatif, tumbuh lebih cepat dan lebih banyak dalam keadaan aerobik. Suhu optimum 35 – 40⁰C. Terutama berasosiasi dengan kulit, dan selaput lendir hewan berdarah panas. Kisaran inangnya luas, dan banyak jalur merupakan patogen potensial (Pelczar dkk, 2008: 954-955).

3. *Staphylococcus epidermidis*

a. Klasifikasi

Domain : Bacteria
 Filum : Firmicutes
 Kelas : Bacilli
 Ordo : Bacillales
 Famili : Staphylococcaceae
 Genus : Staphylococcus
 Spesies : *Staphylococcus epidermidis* (Garrity dkk, 2004: 24,187).

b. Sifat dan morfologi

Staphylococcus epidermidis adalah bakteri gram positif. Sel-sel berbentuk bola, berdiameter 0,5 – 1,5 μm , terdapat dalam tunggal dan berpasangan dan secara khas membelah diri pada lebih dari satu bidang sehingga membentuk gerombolan yang tak teratur. Anaerob fakultatif, tumbuh lebih cepat dan lebih banyak dalam keadaan aerobik. Suhu optimum 35 – 40⁰C. Terutama berosiasi dengan kulit, dan selaput lendir hewan berdarah panas (Pelczar dkk, 2008 : 954).

Koloninya berwarna putih atau kuning dan bersifat anaerob fakultatif. Kuman ini tidak mempunyai protein A pada dinding selnya. Bersifat koagulasi negatif meragi glukosa, dalam keadaan anaerob tidak meragi manitol (Syahracham, Agus, dkk, 1994).

4. *Bacillus subtilis*

a. Klasifikasi

Domain : Bacteria
 Phylum : Firmicutes
 Class : Bacili
 Ordo : Bacillales
 Familia : Bacillaceae
 Genus : Bacillus
 Spesies : *Bacillus subtilis* (Garrrity, dkk. 2004 : 24 ,172).

b. Sifat dan morfologi

Bacillus subtilis merupakan bakteri gram positif memiliki sel batang 0,3-2,2 μm x 1,27–7,0 μm . Sebagian besar motil, flagellum khas lateral. Membentuk endospora tidak lebih dari satu dalam sel spongarium. Kemoorganotrof. Metabolisme dengan respirasi sejati, fermentasi sejati atau kedua-duanya, yaitu respirasi dan fermentasi. Katalase positif yang umumnya ditemukan di tanah

Aerobik sejati atau anaerobik fakultatif. Bersifat termofilik yang dapat tumbuh pada kisaran suhu 45-55°C dan mempunyai pertumbuhan yang optimum pada suhu 60-80°C (Pelczar dkk, 2008 : 947).

5. *Escherichia coli*

a. Klasifikasi

Domain : Bacteria

Phylum : Proteobacteria

Class : Gammaproteobacteria

Ordo : Enterobacteriales

Familia : Enterobacteriaceae

Genus : *Escherichia*

Spesies : *Escherichia coli* (Garrity dkk. 2004 : 24,141).

b. Sifat dan morfologi

Escherichia coli merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang lurus 1,1-1,5 µm x 2,0-6,0 µm, motil dengan flagellum peritrikum atau non motil. Tumbuh dengan mudah pada medium nutrient sederhana. Laktosa difermentasi oleh sebagian besar galur dengan produksi asam dan gas (Pelczar dkk , 2008 : 949).

6. *Salmonella typi*

a. Klasifikasi

Domain : Bacteria

Phylum : Gammaproteobacteria

Ordo : Enterobacteriales

Familia : Enterobacteriaceae

Genus : *Salmonella*

Spesies : *Salmonella typi* (Garrity dkk, 2004 : 24,122).

b. Sifat dan morfologi

Salmonella typhi merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang lurus dengan ukuran 0,7-1,5 μm , biasanya tunggal dan kadang-kadang membentuk rantai pendek, jenis yang bergerak flagel peritrik, hidup secara aerobik atau anaerobik fakultatif, artinya dapat menghasilkan energi dengan keadaan anaerob. Meragikan glukosa dengan menghasilkan asam kadang-kadang gas dari manosa. Sebagian besar isolat motil (dapat bergerak). Menghasilkan H_2S . Tumbuh optimal pada suhu 37°C dan berkembang biak pada suhu kamar. Mati pada suhu 56°C atau pada keadaan kering. Bakteri ini dapat ditemukan disaluran pencernaan manusia dan hewan. Bakteri ini merupakan penyebab demam tifoid karena adanya infeksi akut pada usus halus manusia dan hewan. Memiliki tiga jenis antigen O, antigen Vi atau K, dan antigen H (Pelczar dkk, 2008 : 953).

7. *Streptococcus mutans*

a. Klasifikasi

Domain : Bacteria

Phylum : Firmicutes

Class : Bacilli

Ordo : Lactobacillales

Familia : Streptococcaceae

Genus : Streptococcus

Spesies : *Streptococcus mutans* (Garrity dkk, 2004 : 24,203).

b. Sifat dan morfologi

Streptococcus mutans merupakan bakteri gram positif. Sel-sel berbentuk bola sampai lonjong, berdiameter 0,5-1,5 μm , koloni bulat cembung dengan permukaan licin atau sedikit kasar dan tepi seluruhnya atau sebagian tidak beraturan. Koloni buram berwarna biru terang, bersifat fakultatif aerob dimana

fakultatif aerob adalah bakteri dapat menggunakan oksigen untuk menghasilkan energi tetapi dapat juga menghasilkan energi dengan cara anaerob, dapat tumbuh pada suhu 45°C dan suhu optimumnya. Dinding sel terdiri dari 4 komponen antigenik yaitu peptidoglikan, polisakarida, protein, dan asam lipokoat. Bersifat nonmotil (tidak bergerak). Bersifat asidogenik yakni menghasilkan asam (Pelczar dkk, 2008 : 955).

8. *Vibrio sp.*

a. Klasifikasi

Domain : Bacteria
 Phylum : Proteobacteria
 Class : Gammaproteobacteria
 Ordo : Vibrionales
 Familia : Vibrionaceae
 Genus : *Vibrio*
 Spesies : *Vibrio sp* (Garrrity dkk, 2004: 24,95).

b. Sifat dan morfologi

Vibrio sp merupakan bakteri gram negatif. Batang pendek, tidak membentuk spora, tumbuh melengkung atau lurus, berukuran 0,5 x 1,5-3,0 µm, terdapat tunggal atau kadang-kadang bersatu dalam bentuk S atau spiral. Motil dengan satu flagellum polar, atau pada beberapa spesies dengan dua atau lebih flagellum dalam satu berkas polar ; hanya sesekali non motil. Seringkali mempunyai sferoplas, biasanya dibentuk dalam keadaan lingkungan yang kurang menguntungkan. Tidak tahan asam. Tidak membentuk kapsul. Tumbuh baik dan cepat pada medium nutrient baku. Kemoorganotrof, metabolisme dengan respirasi (menggunakan oksigen) dan fermentatif. Anaerobik fakultatif. Suhu optimum berkisar dari 18-37°C (Pelczar dkk, 2008 : 956).

C. Metode Ekstraksi

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dari massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Dirjen POM, 1995: 7).

Ragam ekstraksi yang tepat sudah tentu bergantung pada tekstur dan kandungan air bahan tumbuhan yang diekstraksi dan pada jenis senyawa yang diisolasi. Umumnya kita perlu “membunuh” jaringan tumbuhan untuk mencegah terjadinya oksidasi enzim atau hidrolisis. Mencemplungkan jaringan daun segar atau bunga, bila perlu dipotong-potong, ke dalam etanol mendidih adalah suatu cara yang baik untuk mencapai tujuan itu. Alkohol bagaimanapun juga adalah pelarut serbaguna yang baik untuk ekstraksi pendahuluan. Selanjutnya bahan dapat dimaserasi dalam suatu wadah toples kaca, lalu disaring. Tetapi hal ini hanya betul-betul diperlukan bila kita ingin mengekstraksi habis. Bila mengisolasi senyawa dari jaringan hijau, keberhasilan ekstrak dengan alkohol berkaitan langsung dengan seberapa jauh klorofil tertarik oleh pelarut itu. Bila pada ampas sampel sama sekali tidak berwarna hijau lagi, dapat dianggap semua senyawa berbobot molekul rendah telah terekstraksi (Harbone, 1998:6-7).

1. Cara Dingin

a. Maserasi

Maserasi merupakan penyarian secara sederhana karena dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan dan zat aktif di dalam sel dan di luar sel maka larutan didesak keluar. Peristiwa ini berulang-ulang

kali terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan diluar dan didalam sel (Dirjen POM.1979: 9).

Maserasi merupakan proses perendaman sampel dengan pelarut organik yang digunakan pada temperatur ruangan. Proses ini sangat menguntungkan dalam isolasi bahan alam karena dengan perendaman sampel tumbuhan akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara didalam dan diluar sel sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik dan ekstraksi senyawa akan sempurna karena dapat diatur lama perendaman yang dilakukan. Pemilihan pelarut untuk proses maserasi akan memberikan efektivitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam pelarut tersebut. Secara umum pelarut metanol merupakan pelarut yang paling banyak digunakan dalam proses maserasi. Metode maserasi dapat dilakukan modifikasi seperti berikut :

1) Modifikasi maserasi melingkar

Maserasi melingkar adalah penyarian yang dilakukan dengan menggunakan cairan penyari yang selalu bergerak dan menyebar (berkesinambungan) sehingga kejenuhan cairan penyari merata. Keuntungan cara ini antara lain, aliran cairan penyari mengurangi lapisan batas, cairan penyari akan didistribusi secara seragam, sehingga memperkecil kepekatan setempat, waktu yang diperlukan lebih singkat.

2) Modifikasi maserasi digesti

Maserasi digesti adalah cara maserasi dengan menggunakan panas lemah, yaitu pada suhu 40-50°C. Cara ini hanya dapat dilakukan untuk simplisia yang zat aktifnya tahan terhadap pemanasan. Dengan pemanasan akan diperoleh keuntungannya lapisan-lapisan batas, daya melarutkan cairan penyari akan meningkat sehingga pemanasan tersebut mempunyai pengaruh yang sama dengan pengadukan, dan koefisien difusi berbanding lurus dengan suhu absolute dan

berbanding terbalik dengan kekentalan, hingga kenaikan suhu akan berpengaruh pada kecepatan difusi.

3) Modifikasi maserasi melingkar bertingkat

Maserasi melingkar bertingkat sama dengan maserasi melingkar tetapi pada maserasi melingkar bertingkat dilengkapi dengan beberapa bejana penampungan sehingga tingkat kejenuhan cairan penyari setiap bejana berbeda-beda (Dirjen POM, 1979 : 12-15).

b. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (*exhaustive extraction*) yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Proses terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetapan / penampungan ekstrak) yang jumlahnya 1-5 bahan (Dirjen POM. 1979:16).

Perkolasi merupakan proses melewati pelarut organik pada sampel sehingga pelarut akan membawa senyawa organik bersama-sama pelarut. Tetapi efektivitas dari proses ini hanya akan lebih besar untuk senyawa organik yang sangat mudah larut dalam pelarut yang digunakan (Darwis,2000).

2. Cara Panas

a. Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga dapat termasuk proses ekstraksi sempurna.

b. Soxhlet

Soxhlet adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

c. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan (kamar), yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40 – 50°C.

d. Infus

Infus adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infus tercelup dalam genangan air mendidih, temperatur terukur 96- 98°C) selama waktu tertentu 15-20 menit.

e. Dekok

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama >30°C dan temperatur sampai titik didih air.

D. Metode Pemisahan Secara Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi adalah suatu teknik pemisahan, yang pertamakali dipakai untuk memisahkan zat warna tanaman. Meskipun demikian untuk senyawa-senyawa yang berwarna tak lama dan hampir kebanyakan pemisahan-pemisahan secara kromatografi sekarang diperuntukkan untuk senyawa-senyawa tak berwarna termasuk gas (Sastromidjojo. 1985:30).

Pemisahan secara kromatografi dilakukan dengan memperhatikan secara langsung beberapa sifat fisika dari zat yang terlibat adalah :

- a. Kecendrungan molekul untuk melarut dalam cairan.
- b. Kecendrungan molekul untuk melekat pada permukaan serbuk halus.
- c. Kecendrungan molekul untuk menguap atau berubah keadaan uap.

Manfaat dilakukan kromatografi pada hakekatnya adalah dengan mengetahui senyawa-senyawa apa yang ada (kualitatif), berapa kadarnya (kuantitatif) dan bagaimana memperoleh yang murni (Gritter. 1991: 1,14).

Kromatografi lapis tipis adalah salah satu cara memisahkan suatu komponen berdasarkan adsorbasi dan partisi. Adsorben yang digunakan berupa bubuk halus dari silika gel yang dibuat serba rata diatas lempeng aluminium. Komponen yang dipisahkan naik mengikuti pelarutnya sesuai kecepatan elusinya masing-masing terjadi pemisahan. Ukuran partikel adsorben harus halus, agar lapisan adsorben pada lempeng aluminium terbentuk rata dan homogen sehingga rembesan dari cairan pengelusi cepat dan rata, dengan demikian komponen dapat terpisah baik.

KLT memiliki beberapa kelebihan yaitu pemisahan senyawa yang amat berbeda seperti senyawa organik alam dan senyawa organik sintetik, kompleks anorganik-organik, dan bahkan ion anorganik, dapat dilakukan dalam beberapa menit dengan alat yang harganya tidak mahal. Selain itu pelarut dan cuplikan yang digunakan jumlahnya sedikit (Sastroamidjojo. 1985: 34,36)

E. KLT – Bioautografi

Bioautografi, berasal dari kata *bio* yang berarti makhluk hidup dan *autografi* berarti melakukan aktivitas sendiri. Bioautografi adalah suatu metode pendeteksian untuk menemukan suatu senyawa antimikroba yang belum teridentifikasi dengan cara melokalisir aktivitas antimikroba tersebut pada suatu kromatogram. Metode ini memanfaatkan pengertian kromatografi lapis tipis (KLT). Pada bioautografi ini didasarkan atas efek biologi berupa antibakteri, antiprotozoa, antitumor, dan lain-lain dari substansi yang teliti. Ciri khas dari prosedur bioautografi adalah didasarkan pada metode difusi agar, dimana senyawa antimikrobanya dipindahkan dari lapisan KLT ke medium agar yang telah

diinokulasikan dengan merata bakteri uji yang peka. Dari hasil inkubasi pada suhu dan waktu tertentu akan terlihat zona hambatan disekeliling dari spot dari KLT yang telah ditempelkan pada media agar. Zona hambat ditampakkan oleh aktivitas senyawa aktif yang terdapat didalam bahan yang diperiksa terhadap pertumbuhan mikroorganisme uji (Djide dkk.2006 :299-302).

Metode bioautografi merupakan metode sederhana yang digunakan untuk menunjukkan adanya aktivitas antibakteri atau antikapang. Metode ini menggabungkan penggunaan teknik kromatografi lapis tipis dengan respon mikroorganisme yang diuji berdasarkan aktivitas biologi dari suatu analit yang dapat berupa antibakteri, antikapang, dan antiprotozoa. Bioautografi dapat digunakan untuk mencari antibakteri atau antikapang yang terkandung dalam suatu sampel tumbuhan atau tanaman, dan juga dengan metode ini kita dapat mendeteksi golongan senyawa (Mace K dkk.2005: 67-71).

KLT- Bioautografi dapat dibagi atas 3 kelompok yaitu :

a. Bioautografi Langsung

Prinsip kerja dari metode ini adalah suspensi mikroorganisme uji peka dalam medium cair disemprotkan pada permukaan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) yang telah dihilangkan sisa-sisa eluen yang menempel pada lempeng kromatografi. Setelah itu dilakukan inkubasi pada suhu dan waktu tertentu.

b. Bioautografi kontak

Metode ini didasarkan atas difusi dari senyawa yang telah dipisahkan dengan kromatografi lapis tipis (KLT) atau kromatografi kertas. Lempeng kromatografi tersebut ditempatkan diatas permukaan medium Nutrien Agar yang telah diinokulasikan dengan mikroorganisme yang sensitif terhadap senyawa antimikroba yang dianalisis. Setelah 15-30 menit, lempeng kromatografi tersebut dipindahkan diangkat dari permukaan medium. Senyawa antimikroba yang telah

berdifusi dari lempeng kromatografi ke dalam media agar dan akan menghambat pertumbuhan bakteri setelah diinkubasi pada suhu dan waktu tertentu sampai noda yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme uji tampak pada permukaan membentuk zona yang jernih.

c. Bioautografi Pencelupan

Pada prakteknya metode ini dilakukan sebagai berikut yaitu bahwa lempeng kromatografi yang telah dielusi, diletakkan dalam cawan petri, sehingga permukaannya tertutup oleh medium agar yang berfungsi sebagai “base layer” . setelah medium agar memadat, selanjutnya dituangkan medium yang telah disuspensikan mikroba uji yang berfungsi sebagai “seed layer”. Kemudian diinkubasi pada suhu dan waktu sesuai.

F. Sterilisasi

Sterilisasi adalah suatu proses untuk membunuh atau memutuskan semua mikroorganisme atau jasad renik yang ada, sehingga jika ditumbuhkan di dalam suatu medium tidak ada lagi mikroorganisme atau jasad renik yang dapat berkembang biak. Sterilisasi harus dapat membunuh mikroorganisme atau jasad renik yang paling tahan panas yaitu spora bakteri.

Jenis-jenis sterilisasi :

1. Sterilisasi Panas

a. Pemanasan Basah

Untuk membunuh mikroorganisme atau jasad renik dapat digunakan beberapa perlakuan fisik, misalnya dengan pemanasan basah, pemanasan kering, radiasi, dan lain-lain.

1) Perebusan

Air mendidih atau uap air suhu 100°C dapat membunuh bentuk vegetatif dari mikroorganisme dan virus dalam waktu lima menit. Beberapa spora juga

dapat terbunuh pada suhu 100°C selama beberapa menit, tetapi masih banyak spora bakteri yang tahan terhadap panas dan masih tetap hidup setelah dilakukan perebusan selama beberapa jam.

2) Pemanasan dengan tekanan

Pengukusan dengan tekanan dapat dilakukan dengan menggunakan alat berupa autoklaf yaitu untuk membunuh spora bakteri yang paling tahan panas. Spora yang paling tahan panas akan mati pada suhu 121°C selama 15 menit, kekuatan membunuh dari uap air panas disebabkan pada waktu kondensasi, pada bahan yang disterilisasi dilepaskan sejumlah besar panas latent. Pengerutan yang disebabkan oleh kondensasi menyebabkan penyerapan uap air baru yang berarti lebih banyak panas yang diserap. Sterilisasi untuk bahan cair, susu, sediaan cair, larutan, emulsi atau suspensi yang bahannya mengandung bahan yang mudah rusak.

3) Tyndalisasi

Proses sterilisasi dengan cara menggunakan pemanasan dengan suhu 100°C selama 30 menit dan dilakukan setiap hari berturut-turut selama tiga hari. Waktu inkubasi dilakukan diantara dua proses pemanasan, dua proses pemanasan sengaja dilakukan agar spora yang bergerminasi menjadi sel vegetatif, sehingga mudah dibunuh pada pemanasan berikutnya.

4) Pasteurisasi

Proses pemanasan pada suhu rendah yaitu $63-70^{\circ}\text{C}$ selama 30 menit dan dilakukan setiap hari selama tiga hari berturut-turut. Proses ini biasa dilakukan terhadap bahan atau zat-zat yang tidak tahan pada pemanasan tinggi seperti susu. Ada beberapa mikroorganisme yang tahan pada suhu tinggi atau termofil dan sporanya tahan pada proses pasteurisasi. Setelah proses pasteurisasi dilakukan,

maka produk harus didinginkan dengan cepat untuk mencegah pertumbuhan bakteri yang masih hidup.

b. Pemanasan Kering

Pemanasan kering kurang efektif untuk membunuh mikroorganisme dibandingkan dengan pemanasan basah. Berbeda pada pemanasan basah yang menyebabkan terjadinya denaturasi protein, pada pemanasan kering yang menyebabkan dehidrasi sel. Pemanasan kering juga dapat menyebabkan oksidasi komponen-komponen dalam sel. Pemanasan kering digunakan dalam sterilisasi alat gelas di laboratorium, dimana digunakan oven dengan suhu 160-180°C, selama 1,5-2 jam dengan sistem udara statis. Jika digunakan oven yang dilengkapi dengan sirkulasi udara, maka hanya dibutuhkan waktu setengahnya, karena aliran udara panas ke alat-alat gelas akan lebih efisien.

c. Sterilisasi Radiasi

Sinar matahari yang dipancarkan langsung pada sel vegetatif mikroorganisme dapat menyebabkan kematian pada sel tersebut, sedangkan sporanya biasanya lebih tahan. Efek bakterial dari sinar matahari tersebut disebabkan oleh bagian ultra violet dari spektrum sinarnya. Sinar ultra violet (UV) yang dipancarkan dari lampu uap yang sering digunakan untuk menyinari ruangan-ruangan tertentu, sehingga dapat mengurangi kontaminasi mikroorganisme di udara pada ruangan. Radiasi UV menyebabkan kesalahan dalam replikasi DNA dan mempunyai aktivitas mutagenik dalam sel-sel yang masih hidup.

2. Sterilisasi Mekanik

Biasa disebut penyaringan. Cara-cara penyaringan telah banyak digunakan untuk mensterilkan medium laboratorium dan larutan-larutan yang dapat mengalami kerusakan jika dipanaskan. Penyaringan dengan ukuran pori-pori 0,45

mikro dan akan menghilangkan mikroorganisme yang ada pada larutan tersebut. Penyaring yang banyak digunakan tersebut dibuat dari gelas sinter, film selulosa (gelmen, Millipore) dan abestos atau penyaring Seitz. Pori-pori penyaring tersebut berkisar antara 0,22-10 mikron. Pori-pori yang lebih besar biasanya digunakan untuk menjernihkan sebelum digunakan pori-pori yang lebih halus, sehingga tidak terjadi penyumbatan. Penyaring yang biasa digunakan untuk menahan atau menyaring virus mikoplasma adalah penyaring yang memiliki ukuran yang sangat kecil yakni penyaring Seitz.

3. Sterilisasi Kimia

Bahan kimia ini menimbulkan pengaruh yang lebih selektif terhadap mikroorganisme dibanding dengan perlakuan fisik seperti panas dan radiasi. Cara ini sering disebut dengan :

a. Desinfeksi

Suatu proses untuk membunuh mikroorganisme yang bersifat patogen yang sering digunakan adalah dengan cara kimia atau fisik, cara ini ditunjukkan untuk pemakaian pada benda mati, tetapi tidak selalu efektif terhadap bentuk spora.

b. Antiseptis

Suatu proses untuk membunuh atau memusnahkan mikroorganisme atau jasad renik yang pada umumnya menggunakan cara kimia dan penggunaannya ditujukan kepada makhluk hidup. Bahan antiseptik dapat pula bersifat bakterisid atau fungisid yaitu dapat membunuh bakteri atau fungi dan dapat pula bersifat bakteriostatik atau fungistatik yaitu hanya dapat menghambat pertumbuhan bakteri atau fungi (Djide.M.N, Sartini. 2008: 191-194).

G. Antimikroba

1. Pengertian Antimikroba

Bahan-bahan atau obat-obatan yang digunakan untuk memberantas infeksi mikroba pada manusia termasuk diantaranya antibiotik, antiseptik, disinfektansia, dan preservatif.

Obat-obat yang digunakan untuk membasmi mikroorganisme yang menyebabkan infeksi pada manusia, hewan maupun tumbuhan harus bersifat toksisitas selektif artinya obat atau zat tersebut harus bersifat toksik terhadap mikroorganisme penyebab penyakit tetapi relatif tidak toksik terhadap jasad inang atau hospes (Djide, Sartini. 2008:399).

2. Sifat Antimikroba

a. Bakteriostatik

Zat atau bahan yang dapat menghambat atau menghentikan pertumbuhan mikroorganisme (bakteri). Dalam keadaan seperti ini jumlah mikroorganisme menjadi stasioner, tidak dapat lagi bermultiplikasi dan berkembang biak. Contoh sulfonamida, tetrasiklin, kloramfenikol, dan eritromisin.

b. Bakteriosida

Zat atau bahan yang dapat membunuh mikroorganisme (bakteri). Dalam hal ini jumlah mikroorganisme (bakteri) akan berkurang atau bahkan habis, tidak dapat lagi melakukan atau berkembang atau bahkan habis, tidak dapat lagi melakukan atau berkembang biak. Contoh penisilin, sefalosporin, dan neomisin (Djide, Sartini. 2008:399).

3. Prinsip Kerja Antimikroba

Suatu antimikroba memperlihatkan toksisitas yang selektif, dimana obatnya lebih toksik terhadap mikroorganisme dibandingkan pada sel hospes. Hal ini dapat terjadi karena pengaruh obat yang selektif terhadap mikroorganisme atau karena

obat reaksi-reaksi biokimia yang penting dalam sel parasit lebih unggul daripada pengaruhnya pada hospes. Disamping itu struktur mikroorganisme berbeda dengan struktur sel manusia (Djide,Sartini. 2008:340).

4. Mekanisme Antimikroba

a. Mengganggu metabolisme sel mikroba

Pada umumnya bakteri memerlukan *para amino benzoic acid* (PABA) untuk mensintesis purin dan pirimidin (prekursor DNA dan RNA), bila asam fosfat tidak ada, sel-sel tidak dapat tumbuh atau membelah (Mycel.2001:283-284).

Antimikroba bekerja memblokir terhadap metabolit spesifik mikroba, seperti sulfonamida. Sulfonamida menghambat pertumbuhan sel dengan menghambat sintesis asam folat oleh bakteri. Sulfonamida secara struktur mirip dengan asam folat, PABA, dan bekerja secara kompetitif untuk enzim-enzim yang langsung mempersatukan PABA dan sebagian menjadi dihidropteroat (Djide.M.N., Sartini.2008:341).

b. Penghambat sintesis dinding sel

Ada antibiotik yang merusak dinding sel mikroba dengan menghambat sintesis enzim atau inaktivasi enzim, sehingga menyebabkan hilangnya viabilitas dan sering menyebabkan sel lisis. Antibiotik ini meliputi penisilin, sefalosporin, sikloserin, vankomisin, ristosetin, dan basitrasin. Antibiotik ini menghambat sintesis dinding sel terutama dengan mengganggu sintesis peptidoglikan (Suwandi,1992).

Dinding sel bakteri menentukan bentuk karakteristik dan berfungsi melindungi bagian dalam sel terhadap perubahan tekanan osmotik dan kondisi lingkungan lainnya. Didalam sel terdapat sitoplasma yang dilapisi dengan membran sitoplasma yang merupakan tempat berlangsungnya proses biokimia sel.

Adanya mekanisme yang mempengaruhi langkah akhir sintesis dinding sel (bakteri transpeptidase atau ikatan silang) sehingga membran kurang stabil secara osmotik, akan terjadi lisis pada sel (Suwandi, 1992)

c. Penghambat terhadap fungsi membran sel

Dibawah dinding sel bakteri adalah lapisan membran sel lipoprotein yang dapat disamakan dengan membran sel pada manusia. Membran ini mempunyai sifat permeabilitas selektif dan berfungsi mengontrol keluar masuknya substansi dari dan kedalam sel, serta memelihara tekanan osmotik internal dan ekskresi waste product. Selain itu membran sel juga berkaitan dengan replikasi DNA dan sintesis dinding sel. Oleh karena itu, substansi yang menggunakan fungsinya akan sangat lethal terhadap sel. Beberapa antibiotik yang dikenal mempunyai mekanisme kerja mengganggu membran sel yaitu antibiotik peptida (polimiksin, gramisidin, sirkulin, tirosidin, valinoomisin).

Membran sel merupakan lapisan molekul lipoprotein yang dihubungkan dengan ion Mg selama pembentukan membran, dapat meningkatkan permeabilitas sel atau menyebabkan sel lisis. Beberapa antibiotik bersatu dengan membran dan berfungsi sebagai ion phores, yaitu senyawa yang memberi jalan masuknya ion abnormal. Proses ini dapat mengganggu biokimia sel, misalnya Gramicidin. Polimiksin dapat merusak membran sel setelah beraksi dengan fosfat pada fosfolipid membran sel. Sehingga polimiksin lebih aktif terhadap bakteri gram negatif daripada gram positif yang mempunyai jumlah fosfor lebih rendah (Suwandi.1992).

d. Penghambat terhadap sintesis protein

Hidupnya suatu sel tergantung pada terpilihnya molekul-molekul dalam keadaan alamiah. Suatu kondisi atau substansi mengubah keadaan ini yaitu mendenaturasi protein dengan merusak sel tanpa dapat diperbaiki kembali. Suhu

tinggi atau konsentrasi beberapa zat dapat mengakibatkan koagulasi irreversible komponen-komponen seluler yang vital ini.

Antimikroba mempunyai fungsi ribosom pada mikroorganisme yang menyebabkan sintesis protein terhambat. Dimana dapat berikatan dengan ribosom 30S yang dapat menyebabkan akumulasi sintesis protein awal yang kompleks, sehingga salah dalam menerjemah tanda m-RNA menghasilkan polipeptida yang abnormal. Selain ini juga dapat berikatan dengan ribosom 50S yang dapat menghambat ikatan asam amino baru pada rantai peptida yang memanjang. Contohnya amonoglikosida, kloramfenikol, tetrasiklin, eritromisin, dan linkomisin (Ganiswara.1995:572-573).

e. Penghambat terhadap sintesis asam nukleat

Asam nukleat merupakan bagian yang sangat vital bagi perkembangbiakan sel. Untuk pertumbuhannya, kebanyakan sel tergantung pada sintesis DNA, sedangkan RNA diperlukan untuk transkripsi dan menentukan informasi sintesis protein dan enzim. Ada beberapa jenis RNA, yaitu t-RNA, r-Rna, dan m-RNA yang masing-masing mempunyai peranan pada sintesis protein (Suwandi.1992).

Begitu pentingnya DNA dan RNA dalam proses kehidupan sel. Hal ini berarti bahwa gangguan apapun yang terjadi pada pembentukan atau pada fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel. Dalam hal ini mempengaruhi metabolisme asam nukleat, seperti berikatan dengan enzim DNA dependen RNA-polymerase bakteri, memblokir helix DNA. Contoh quinolon, pyrimetamin, trimethoprin, dan trimetrexat (Pelczar. Michael J. And Chan. E. C. S. 2008:458).

H. Tinjauan Islam

Setiap tanaman atau tumbuhan yang ada di bumi memiliki fungsi dan khasiatnya masing-masing, baik itu tanaman buah-buahan, tanaman sayur-sayuran ataupun dedaunan yang memiliki khasiat dan kegunaan untuk tubuh.

Didalam firman Allah swt didalam Q.S asy-Syu'Araa'(26) ayat 7

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾

Terjemahnya :

Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?. (Departemen Agama RI, Al-Qur'an dan Terjemahan. 2011:367).

Dari ayat tersebut dapat dipahami bahwa salah satu tanda-tanda kebesaran Allah yaitu menciptakan berbagai jenis tumbuhan yang didalamnya terkandung banyak manfaat baik sebagai makanan dan juga digunakan sebagai bahan pengobatan untuk penyakit.

Masyarakat Indonesia sendiri banyak menggunakan tumbuhan sebagai bahan untuk pengobatan dan juga sebagai bahan makanan. Permasalahan yang timbul yakni, apakah tanaman yang digunakan itu halal atau tidak.

Adapun dalam penelitian ini digunakan daun kemangi sebagai sampel tanaman dengan tujuan mengetahui manfaat lain dari daun kemangi, yakni mengetahui bakteri patogen apa yang dapat di hambat dan senyawa apa yang memberikan hambatan pada daun kemangi, hal ini dikarenakan bahwa bakteri patogen dapat menimbulkan berbagai penyakit pada manusia.

Sebagaimana diriwayatkan oleh Abu Hurairah ra bahwa Rasulullah bersabda :

مَا أَنْزَلَ اللَّهُ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً

Artinya :

Dari Abu Hurairah ra, dari Nabi saw, bersabda ; “Allah tidak menurunkan penyakit kecuali Dia juga menurunkan obatnya”(H.R. Al-Bukhari).

Dari hadist di atas diperoleh bahwa setiap penyakit pasti ada obatnya, dan untuk mengetahui obat dari suatu penyakit maka perlu dilakukan suatu penelitian untuk menjadi bahan acuan dalam pengobatan penyakit tersebut.



BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Jenis dan Lokasi Penelitian

1. Jenis Penelitian

Sesuai dengan judul penelitian ini, maka penelitian ini termasuk metode penelitian yang dilakukan secara eksperimental. Perlakuan dengan uji aktivitas ekstrak daun kemangi (*Ocimum sanctum L*) dengan metode KLT-Bioautografi.

Penelitian eksperimental adalah penelitian yang dimaksudkan untuk mengetahui ada tidaknya akibat dari yang dikenakan pada subjek selidik. Dengan kata lain penelitian eksperimen mencoba meneliti ada tidaknya hubungan sebab akibat. Caranya adalah dengan membandingkan satu atau lebih kelompok eksperimen yang diberi perlakuan dengan satu atau lebih kelompok pembanding yang tidak menerima perlakuan (Gulo.W.2002:20).

2. Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Fitokimia dan Mikrobiologi Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Fitokimia untuk melaksanakan proses pengolahan sampel daun kemangi (*Ocimum sanctum L*) sampai didapatkan ekstrak daun kemangi (*Ocimum sanctum L*). Kemudian peneliti juga menggunakan Laboratorium Mikrobiologi untuk melaksanakan sterilisasi bahan dan alat-alat yang akan digunakan, dan juga untuk melaksanakan uji aktivitas antibakteri pada sampel.

B. Pendekatan Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan oleh penulis lebih mendekati kearah penelitian dengan metode eksperimental. Seperti yang telah di jelaskan diatas, metode eksperimental merupakan metode penelitian yang ingin mengetahui hubungan sebab-akibat antara suatu variabel dengan variabel lainnya.

C. Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah sampel dari bahan tanaman yaitu daun kemangi (*Ocimum sanctum L*). Daun kemangi (*Ocimum sanctum L*) diperoleh dari Kecamatan Somba opu, Kabupaten Gowa.

D. Instrumen Penelitian

1. Alat yang digunakan

Autoklaf , bejana maserasi, batang pengaduk, botol coklat, cawan petri, cawan porselin, chamber, gelas Erlenmeyer, gelas ukur 10 ml, gelas ukur 50 ml, gelas kimia, inkubator, kompor gas, Laminar Air Flower (LAF), lampu spirtus, lampu UV 254 nm dan 366 nm, lemari pendingin, oven, ose bulat, penangas air, pinset, rak tabung, rotary evaporator, sendok besi, sendok tanduk, spoit 10 ml, tabung reaksi, timbangan analitik, timbangan ohaus dan vial.

2. Bahan yang digunakan

Agar, air suling (aquadestillata), aluminium foil, biakan bakteri murni (*Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus mutans*, dan *Vibrio sp*), dietil eter, DMSO (Dimetil Sulfoksida), etil asetat, HCL, silikal gel 60 GF₂₅₄, etanol 96%, medium Nutrient Agar (NA), sampel ekstrak daun kemangi, larutan fisiologis Natrium Klorida (NaCl) 0,9%, N-heksan, Besi (III) Klorida (FeCl₃), Dragenddrof, H₂SO₄, dan Libermann-Burchard.

E. Teknik Pengolahan dan Analisis Data

1. Pengambilan Sampel Daun

Sampel daun kemangi diambil dari kecamatan somba opu kabupaten gowa. Daun yang diambil adalah daun hijau yang segar

2. Pengolahan Sampel

Daun kemangi yang telah dipetik dibersihkan kemudian dipisahkan dari kotoran yang menempel pada sampel daun, lalu dicuci dengan air mengalir, kemudian diangin-anginkan ditempat yang tidak terkena langsung sinar matahari. Setelah kering, lalu diserbukkan kemudian sampel siap untuk diekstraksi.

3. Ekstraksi Sampel

Sampel diekstraksi dengan pelarut etanol 70%. Sampel daun Kemangi (*Ocimum sanctum* L.) yang telah kering ditimbang sebanyak 400 gram di masukkan ke dalam wadah maserasi, kemudian ditambahkan etanol 70% sebanyak 2 liter hingga terendam seluruhnya. Wadah maserasi ditutup dan disimpan selama 24 jam di tempat yang terlindung dari sinar matahari langsung sambil sesekali diaduk. Selanjutnya disaring, dipisahkan antar ampas dan filtrate. Ampas diekstraksi kembali dengan etanol 70% yang baru dengan jumlah yang sama. Hal ini dilakukan selama 3×24 jam. Filtrate etanol 70% yang diperoleh kemudian dikumpulkan dan diuapkan cairan penyarinya dengan rotavapor, selanjutnya dianginkan hingga diperoleh ekstrak etanol kering

4. Sterilisasi Alat

Alat-alat yang diperlukan dicuci kemudian setelah itu alat-alat dikeringkan dengan posisi terbalik di udara terbuka setelah kering dibungkus dengan kertas tahan panas. Tabung reaksi dan gelas erlenmeyer terlebih dahulu disumbat dengan kapas bersih. Alat-alat dari kaca disterilkan dalam oven pada suhu 140°C selama 2 jam. Alat-alat suntik seperti spoit yang tidak tahan dalam pemanasan tinggi,

disterilkan pada autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 2 atm. Jarum inokulasi atau ose disterilkan dengan pemanasan langsung hingga memijar.

5. Penyiapan Bakteri Uji

Bakteri uji digunakan dalam penelitian ini meliputi *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus mutans*, dan *Vibrio s*. Bakteri-bakteri ini berasal dari Laboratorium Mikrobiologi Farmasi UIN Alauddin Makassar yang diremajakan dalam medium NA dan diinkubasi selama 1 x 24 jam pada suhu 37°C.

6. Skrining Aktivitas Antibakteri.

Pada tahap skrining aktivitas, ekstrak etanol dilarutkan dalam dimetilsulfoksida (DMSO), kemudian dicampurkan dengan media NA yang telah dicairkan. Campuran tersebut dituangkan ke dalam cawan petri dan digoyang-goyangkan agar rata dan dibiarkan memadat. Biakan mikroba uji yang telah diencerkan diratakan dengan menggunakan metode drygalsky (metode surface plate), kemudian cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam.

7. Pemisahan Senyawa Secara Kromatografi Lapis Tipis

Ekstrak dipisahkan secara KLT dengan menggunakan eluen N-Hekasn : Etil Asetat. Dimana digunakan eluen N-heksan : Etil Asetat dengan perbandingan 3 : 1,. Kemudian Kromatogram yang dihasilkan diamati becaknya dibawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm

8. Pengujian Secara KLT-Bioautografi

Metode ini didasarkan atas difusi senyawa yang telah dipisahkan dengan kromatografi lapis tipis (KLT). Lempeng kromatografi yang sebelumnya telah dielusi, ditempatkan diatas permukaan medium Nutrien agar yang telah diinokulasi dengan mikroorganisme yang sensitif terhadap senyawa antimikroba yang dianalisis. Setelah diinkubasi pada suhu dan waktu yang tepat, akan nampak zona hambat senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

9. Identifikasi Bercak Aktif dengan Beberapa Penampakan Bercak

Kromatogram disemprot dengan menggunakan pereaksi semprot sebagai berikut :

a. Alkaloid

Pereaksi yang digunakan yaitu Dragendorf, jika sampel positif mengandung alkaloid, maka timbul warna jingga dengan latar belakang kuning.

b. Terpenoid

Pereaksi yang digunakan, yaitu Lieberman-Buchard sampel terlebih dahulu dipanaskan setelah disemprot pereaksi, jika sampel positif mengandung terpenoid maka akan memberikan warna violet, kebiruan, coklat..

c. Flavanoid

Pereaksi yang digunakan yaitu Aluminium Klorida diamati di lampu UV, jika sampel mengandung senyawa flavanoid maka noda akan berfluoresensi kuning.

d. Fenol

Pereaksi yang digunakan yaitu Besi (III) Klorida, jika sampel positif mengandung senyawa fenol maka akan dihasilkan warna hitam atau hijau.

e. Khumarin

Pereaksi yang digunakan yaitu Kalium Hidroksida (KOH) etanolik, jika sampel positif mengandung senyawa khumarin maka akan dihasilkan warna merah terang.

f. Penampakan bercak H_2SO_4

Kromatogram disemprotkan pereaksi H_2SO_4 10 % dipanaskan pada suhu 105°C selama 5 menit dan diamati. Kebanyakan senyawa organik memberikan warna kuning, coklat, dan hitam



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Hasil Ekstraksi Daun kemangi

Daun kemangi kering sebanyak 400 gram di ekstraksi dengan menggunakan metode maserasi. Hasil ekstraksi yang diperoleh dengan menggunakan Etanol 70% sebesar 46 gram.

2. Hasil Profil KLT Ekstrak Etanol 70%

Pemisahan senyawa ekstrak etanol 70% (*Ocimum sanctum L*) secara KLT menggunakan campuran eluen N-heksan : Etil Asetat (3:1). Dari hasil penotolan kemudian dapat dilihat penampakan bercaknya pada lampu UV 366 nm, UV 254nm dan H₂SO₄. Hasil pemisahan senyawa KLT dapat dilihat pada Tabel 1 Gambar 3,4,5.

Tabel 1 . Hasil Profil KLT Ekstrak Etanol 70% Daun kemangi (*Ocimum sanctum L*)

Jumah Bercak	Penampakan Bercak Pada					
	UV 366 nm		UV 254 nm		H ₂ SO ₄	
	Rf	Warna	Rf	Warna	Rf	Warna
1	0,15	Violet	0,15	Hitam	0,15	Hijau
2	0,31	Violet gelap	0,31	Hitam	0,31	Hijau
3	0,44	Violet	0,44	hitam	0,44	Jingga
4	0,57	Violet	0,57	hitam	0,57	Hijau
5	0,71	biru	0,75	hitam	0,71	Kuning
6	-	-	-	-	0,95	kuning

3. Hasil KLT-Bioatografi

Pengujian ekstrak etanol 70% daun kemangi (*Ocimum sanctum L*) secara KLT-bioautografi diperoleh bahwa ekstrak daun kemangi dapat menghambat bakteri. Hasil yang diperoleh dapat diamati pada Tabel 6 Gambar 5-11.

Tabel 2 . Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 70% Daun kemangi (*Ocimum sanctum*).

No	Nialai Rf	Bakteri yang d hambat	Senyawa
1	0,15	ST, BS, SA, SM, Vsp, PA,	Alkaloid
2	0,31	PA, ST	Terpenoid
3	0,44	SA, SM, BS, Vsp, EC, PA	Flavanoid

Keterangan :

BS : *Basillus subtilis*

EC : *Escherichia coli*

PA : *Pseudomonas aeruginosa*

ST : *Salmonella thyposa*

SA : *Staphylococcus aureus*

SE : *Staphylococcus epidermidis*

SM : *Streptococcus mutans*

Vsp : *Vibrio sp.*

4. Identifikasi Komponen Kimia Aktif

Pada identifikasi komponen kimia aktif ekstrak etanol 70% daun kemangi (*Ocimum sanctum L*) dengan menggunakan pereaksi warna semprot Besi (III) Klorida, Alumium Klorida, Dragendorf, Liberman Buchard, KOH etanolik dan penampak bercak H₂SO₄. Hasil yang diperoleh dapat diamati pada Tabel 7 Gambar 12.

Tabel 3 . Hasil Pengujian Identifikasi Komponen Kimia Aktif dari Kromatogram Ekstrak Etanol 70% Daun kemangi (*Ocimum sanctum L*)

Pereaksi warna	Senyawa	Perlakuan	warna	Ket
Dragendorff	alkaloid	Foto langsung	Jingga	+
Besi (III) Klorida	Fenolik	Foto langsung	Hitam/hijau	-
Aluminium klorida	Flavanoid	foto UV 366	Kuning, UV 366 nm	+
Lieberman buchard	Terpenoid	Panaskan	Violet, kebiruan, coklat	+
KOH etanolik	Kumarin	Foto langsung	Merah terang	-
H ₂ SO ₄	Organik	Dipanaskan	Kuning/coklat /hitam	+

Keterangan :

+ : Mengandung

- : Tidak Mengandung

B. Pembahasan

Sampel yang digunakan berupa daun dan waktu pengambilan adalah sekitar pukul 09.00 pagi karena saat itulah terjadi fotosintesis maksimum. Sebelum dilakukan proses ekstraksi, daun kemangi yang telah dipetik terlebih dahulu disortasi basah. Sortasi basah dilakukan untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing lainnya dari simplisia. Setelah proses sortasi basah, kemudian daun dicuci dengan menggunakan air yang bersih dan mengalir. Pencucian dilakukan untuk menghilangkan tanah dan kotoran lainnya yang melekat pada bahan simplisia. Pencucian dilakukan dalam waktu sesingkat mungkin karena kemungkinan terdapat beberapa zat yang terkandung dalam

simplisia dapat larut dalam air mengalir. Setelah proses pencucian, kemudian daun diangin-anginkan di dalam ruangan yang terlindung dari sinar matahari langsung. Tujuan pengeringan adalah untuk memperoleh simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama. Dengan mengurangi kadar air yang terdapat pada simplisia. Air yang masih tersisa dalam simplisia pada kadar air tertentu dapat masih menjadi media pertumbuhan dari kapang dan jasad renik lainnya.

Sampel simplisia yang telah kering diekstraksi dengan metode maserasi yang merupakan metode dingin (proses ekstraksi tanpa pemanasan) , tidak perlu pemanasan dalam proses ekstraksinya yang diperkirakan dapat merusak senyawa kimia yang terdapat dalam sampel. Maserasi dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol 70% dan dalam ruangan tertutup untuk menghindari pengaruh cahaya (sinar matahari) terhadap stabilitas senyawa-senyawa yang akan diambil.

Setelah diperoleh ekstrak Etanol kental, kemudian dilanjutkan uji skrinning aktivitas antibakteri. Pengujian dilakukan terhadap bakteri *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus mutans*, dan *Vibrio sp.* Pengujian skrinning aktivitas antibakteri dilakukan untuk mengetahui bakteri yang dapat di hambat oleh ekstrak etanol daun kemangi. menggunakan metode difusi agar dengan cara menggoreskan biakan bakteri pada medium agar yang telah di campur dengan ekstrak etanol daun kemangi.

Adapun pemilihan jenis-jenis bakteri uji tersebut karena sifat-sifat yang patogenik. *Escherichia coli* merupakan bakteri anaerob gram negatif yang bersifat patogenik penyebab utama diare kronik. *Bacillus subtilis* termasuk bakteri batang besar, gram positif dan termasuk bakteri aerob dan dapat menyebabkan bisul. *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri aerob gram negatif, yang bersifat

invasi dan toksigenik dan menyebabkan infeksi mata, *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri kokus gram positif yang bersifat patogenik penyebab infeksi kulit dan borok. *Staphylococcus epidermidis* merupakan bakteri gram positif yang menyebabkan infeksi pada kulit, gatal dan jerawat. *Streptococcus mutans* merupakan bakteri anaerob gram positif yang dapat menyebabkan karies pada gigi. *Salmonella typhosa* merupakan bakteri anaerob, gram negatif yang bersifat patogenik penyebab utama tifoid dan infeksi saluran kemih dan *Vibrio sp.* merupakan bakteri gram negatif, aerob dan menyebabkan penyakit kolera. Dari hasil pengujian, diketahui ekstrak Etanol 70% memberikan aktivitas penghambatan kesemua bakteri uji kecuali *Staphylococcus epidermidis*.

Setelah didapat hasil pengujian skrining, tahap selanjutnya adalah KLT-Bioautografi. menggunakan campuran eluen N-heksan : Etil Asetat (3:1). Hasil kromatografi lapis tipis dilihat pada UV 254, UV 366 dan H₂SO₄.

Lempeng kromatografi tersebut ditempatkan di atas permukaan medium agar yang telah memadat yang sebelumnya telah diinokulasasi dengan bakteri sensitif terhadap senyawa antibakteri yang dianalisis. Setelah 15-30 menit, lempeng kromatografi diangkat dari permukaan medium kemudian diinkubasi selama 1 x 24 jam pada suhu 37°C. Senyawa antibakteri yang telah berdifusi dari lempeng kromatogram ke dalam media agar akan menghambat pertumbuhan bakteri dan membentuk zona bening pada medium agar adapun hasil yang diperoleh dari pengujian lempeng kromatografi dapat dilihat dalam (tabel 6).

Setelah itu dilakukan identifikasi komponen kimia dengan menggunakan pereaksi Aluminium klorida, Besi (III) Klorida, Dragendorff, Liebermann Burchard dan KOH etanolik. Adapun hasil yang diperoleh dari proses identifikasi yakni Pada R_f 0,15 (alkaloid) memberikan penghambatan pada 6 bakteri uji. Senyawa alkaloid memiliki mekanisme penghambatan dengan cara mengganggu komponen

penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut. Pada Rf 0,31 (terpenoid) memberikan penghambatan pada 2 bakteri uji. Senyawa terpenoid dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara mengganggu proses terbentuknya membran atau dinding sel sehingga membran atau dinding sel tidak terbentuk atau terbentuk tidak sempurna. Pada Rf 0,44 (Flavanoid) memberikan penghambatan pada 6 bakteri uji. Senyawa flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri.



BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Bersadarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak etanol 70% daun kemangi (*Ocimum sanctum L*) memiliki aktivitas antibakteri yaitu dapat menghambat *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio sp*, *Basillus subtilis*, *Streptococcus mutans* dan *Escherichia coli*
2. Senyawa aktif yang memiliki aktivitas antibakteri pada ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum*) adalah senyawa golongan flavonoid, alkaloid dan terpenoid

B. Implikasi Penelitian

Untuk menambah data ilmiah dari tanaman daun kemangi (*Ocimum sanctum*), sebaiknya dilakukan penelitian mengenai isolasi komponen kimia dan elucidasi struktur senyawa yang memberikan aktivitas antibakteri



KEPUSTAKAAN

- Departemen Agama RI. 2005. *Al-Qur'an dan Terjemahnya*. Bandung: CV Penerbit Diponegoro
- Baseer M. and Jain K. 2016. *Review of Botany, Phytochemistry, Pharmacology, Contemporary applications and Toxicology of Ocimum sanctum*. Int. J. Pharm. Life Sci., 7(2):4918-4929.
- Dirjen POM. 1979. *Farmakope Indonesia Edisi III*. Deprtemen Kesehatan RI : Jakarta
- Dirjen POM. 1995. *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Deprtemen Kesehatan RI : Jakarta
- Djide, M. N, Sartini. 2008. *Dasar-Dasar Mikrobiologi Farmasi*. Lembaga Penerbitan Universitas Hasanuddin : Makassar
- Ganiswara, Sulistia G. 1995. *Farmakologi dan Terapi. Disi 4. Bagian Farmakologi Fakultas kedokteran*. Universitas Indonesia : Jakarta.
- Garrity. G. M., Bell. J. A. and Lilburn, T.G. 2004. *Taconomic Outlineof The Prokaryotex bergey's Manual of Systematic Bacteriolog. 2th Edition*. United States of America, Springer, New York Berlin Hendelberg.
- Gritter, R. J, Schwerting, A. E.1991. *Pengantar Kromatografi. Edisi Kedua. Terjemahan Kosasih Panwawita*. Penerbit ITB : Bandung.
- Gulo,W. 2002. *Metodologi Penelitian*. Grasindo : Jakarta.
- Harbone, J.B.1998. *Phychemical Methods.3rd ed. UK*. International Thompson Publishing.
- Kusuma, Weda, 2010. Eek ekstrak daun kemangi (*Ocimum sanctum* L)terhadap kerusakan hepatosit mencit akibat mintak sawit dengan pemanasan berulang. Surakarta: fakultaskedokteran Universitas sebelas maret.
- Mycek. M. J. 2001. *Farmakologi Ulasan Bergambar, Cetakan I, Terjemahan Azwar Agoes*. Widya Medika : Jakarta
- Pelczar, M.J., dan Chan, E.C.S..1988. *Dasar – Dasar Mikrobiologi*. Jakarta : Universitas Indonesia.
- Pelczar, Michael J and Chan. E.C.S. 2008. *Dasar-Dasar Mikrobiologi. Terjemahan oleh Hadioetomo, Ratna sari dkk*. Universitas Indonesia : Jakarta

Sarah SM dan Lamia A.M. 2015. *Estimation of the phitochemical constituents and biological activity of iraqi Ocimum sanctum L .extracts*. Int J Pharm Bio Sci 2015 Jan.; 6(1): (B) 999 – 1007

Sastromidjojo, H.1985. *Kromatografi*. Liberty: Yogyakarta

Singh, N. 2013. *Theraupetic potential of Ocimum sanctum in prevention and treatment of cacer and exposure to radiation*. Int J Pharm Sciences and Drug Research 2012; 4(2): 97-104

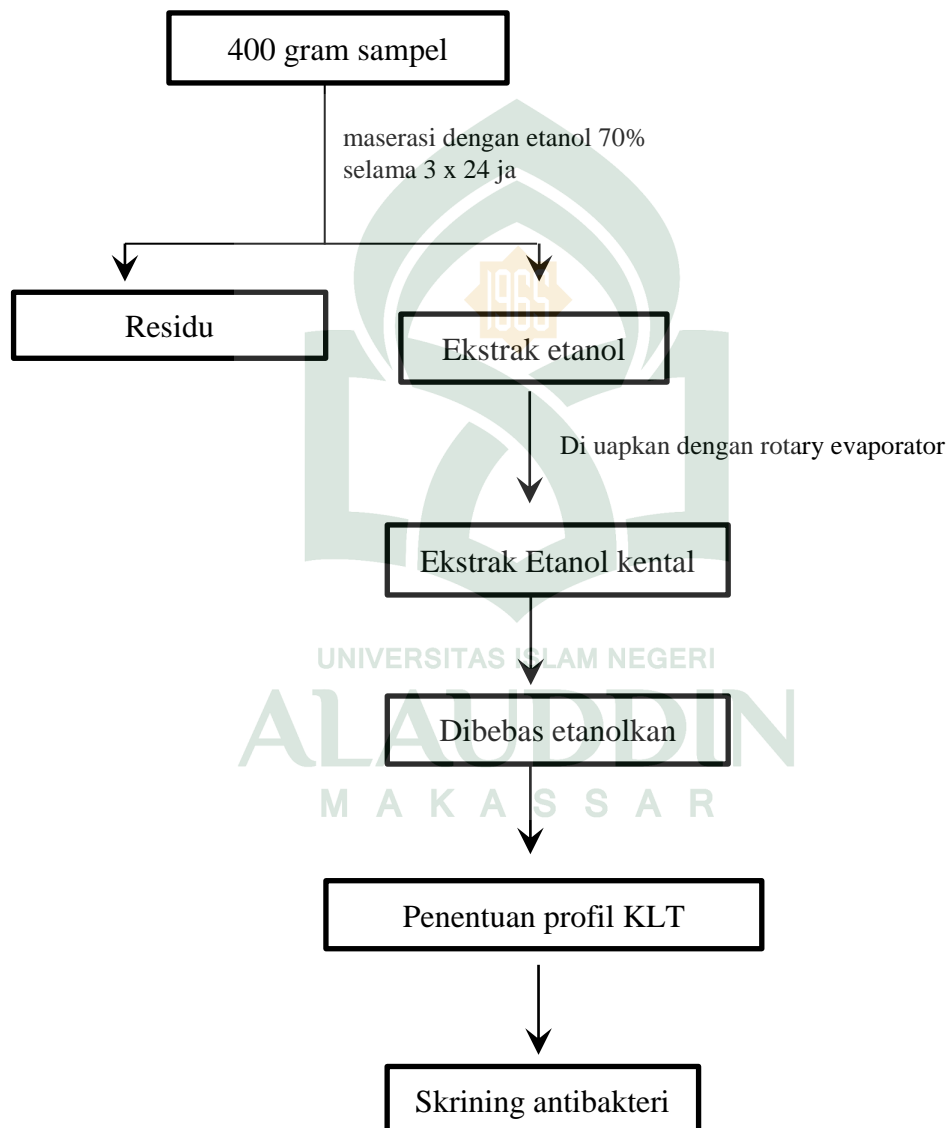
Suwandi, U. 1992. *Mekanisme Kerja Antibiotik. Pusat Penelitian dan Pengembangan*. PT Kalbe Farma : Jakarta



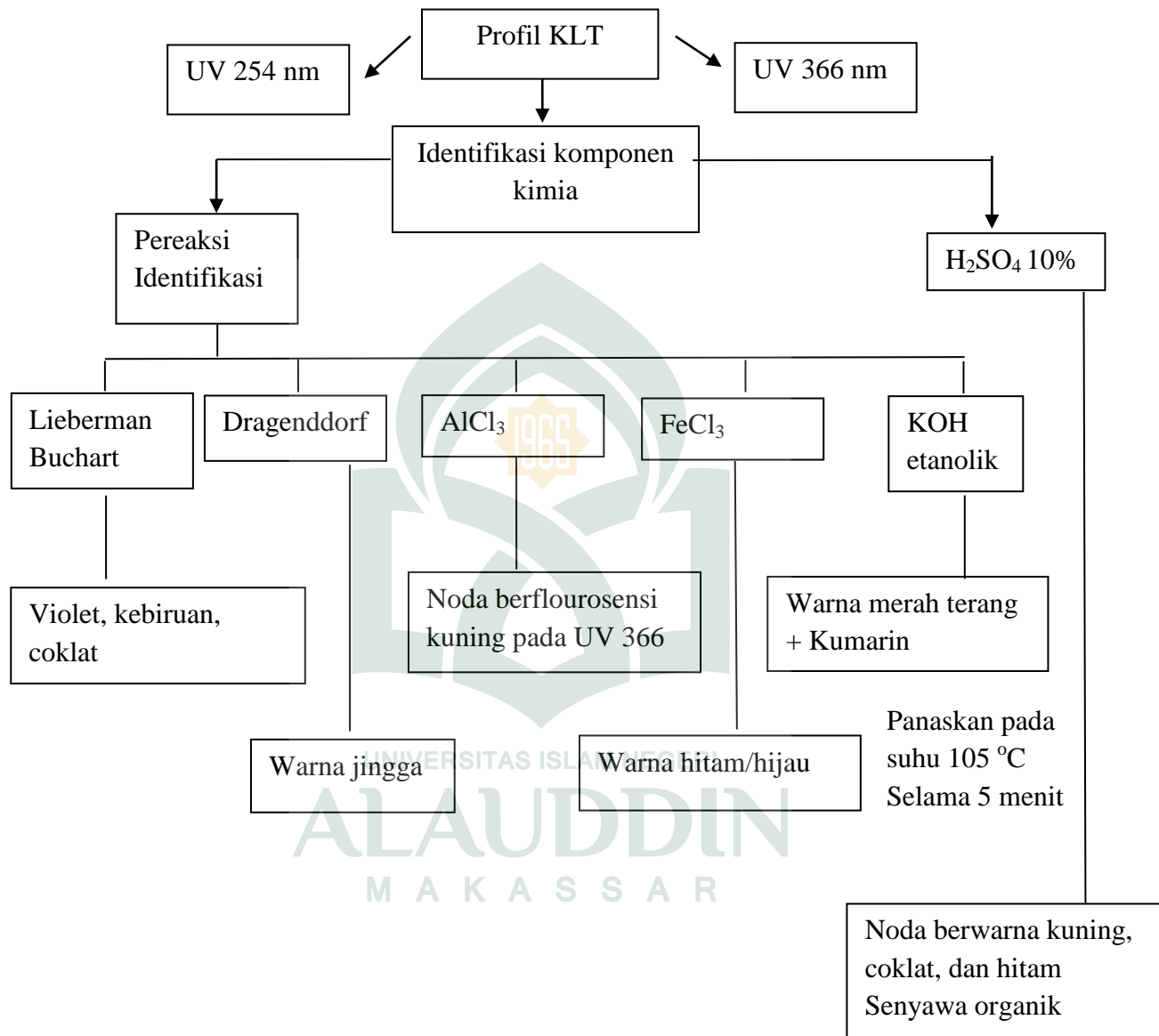
Lampiran 1. Skema Kerja

SKEMA KERJA

1. Ekstraksi dan KLT Bioautografi



2. Idenifikasi komponen kimia

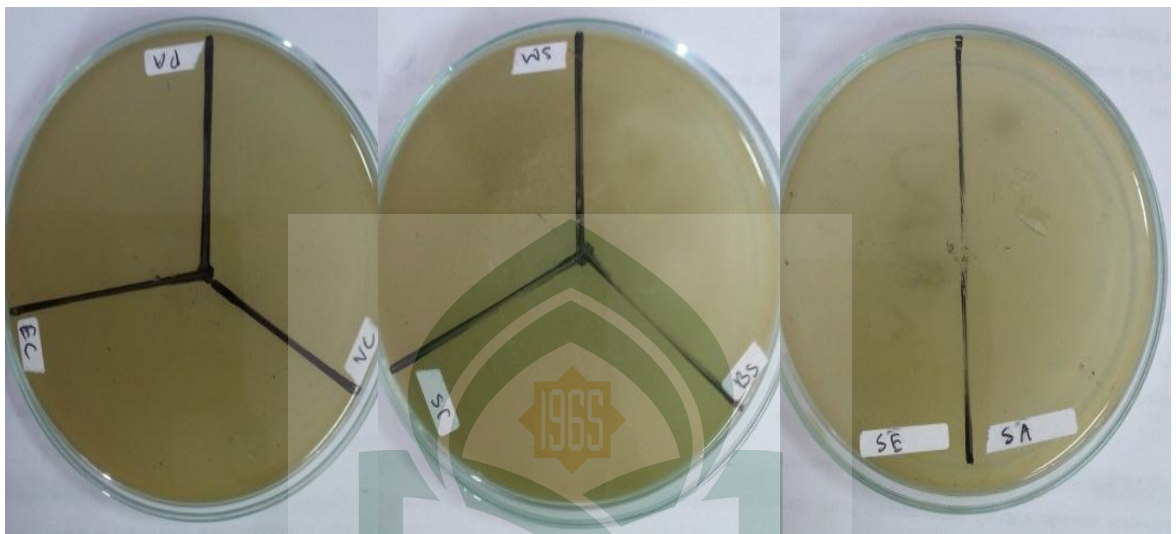


Lampiran 2. Tanaman kemangi



Gambar 1. Daun kemangi (*Ocimum sanctum* L)

Lampiran 3. Hasil skrining antimikroba



Gambar 2. Foto hasil pengujian skrining ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum L*)

Keterangan :

SA : *Staphylococcus aureus*

PA : *Pseudomonas aeruginosa*

ST : *Salmonella thypi*

BS : *Bacillus subtilis*

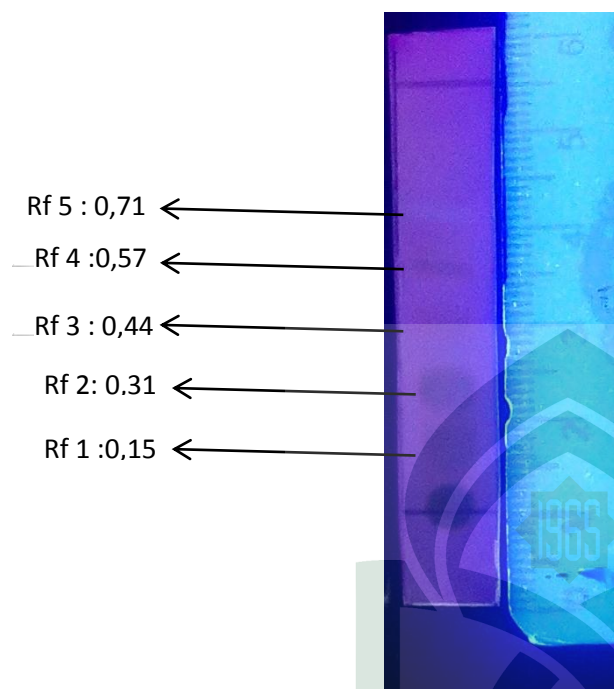
EC : *Echerichia coli*

SE : *Staphylococcus epidermidis*

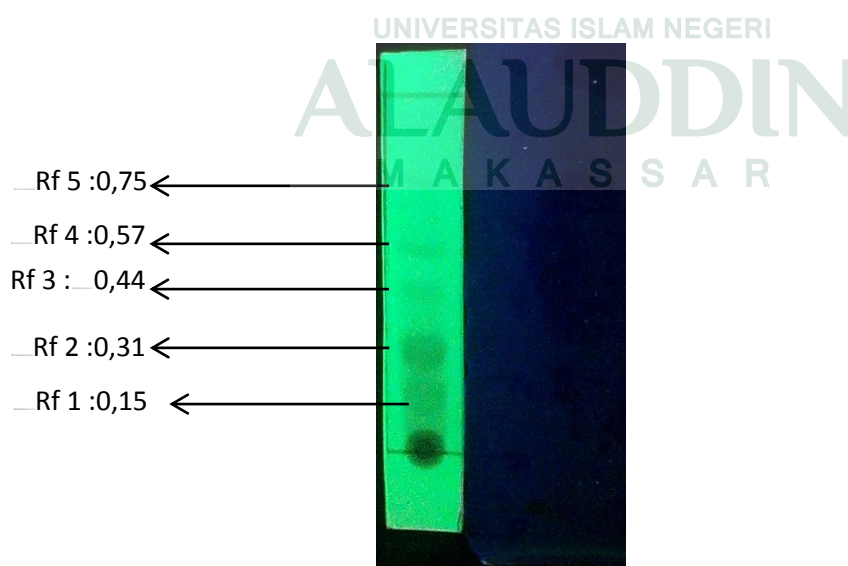
VC : *Vibrio coma*

SM : *Streptococcus mutan*

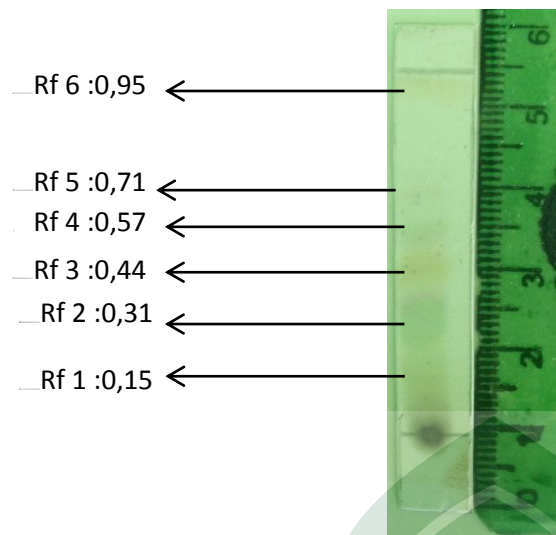
Lampiran 4. Hasil profil KLT



Gambar 3. Foto profil KLT ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum L*) UV 366



Gambar 4. Foto profil KLT ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum L*) UV 254



Gambar 5. Foto profil KLT dengan penyemprotan H_2SO_4

Lampiran 5. Perhitungan nilai R

UV 366

$$\begin{aligned}
 1. \quad R_f &= \frac{\text{jarak yang di tempuh senyawa}}{\text{jarak eluen}} \\
 &= \frac{0,7}{4,5} \\
 &= 0,15
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 2. \quad R_f &= \frac{\text{jarak yang di tempuh}}{\text{jarak eluen}} \\
 &= \frac{1,4}{4,5} \\
 &= 0,31
 \end{aligned}$$

$$3. \quad R_f = \frac{\text{jarak yang di tempuh}}{\text{jarak eluen}}$$

$$= \frac{2,}{4,5}$$

$$= 0,44$$

$$4. R_f = \frac{\text{jarak yang di tempuh}}{\text{jarak eluen}}$$

$$= \frac{2,6}{4,5}$$

$$= 0,57$$

$$5. R_f = \frac{\text{jarak yang di tempuh}}{\text{jarak eluen}}$$

$$= \frac{3,2}{4,5}$$

$$= 0,71$$

UV 254

$$1. R_f = \frac{\text{jarak yang di tempuh}}{\text{jarak eluen}}$$

$$= \frac{0,7}{4,5}$$

$$= 0,57$$

$$2. R_f = \frac{\text{jarak yang di tempuh}}{\text{jarak eluen}}$$

$$= \frac{1,4}{4,5}$$

$$= 0,31$$

$$3. R_f = \frac{\text{jarak yang di tempuh}}{\text{jarak eluen}}$$

$$= \frac{2}{4,5}$$

$$= 0,44$$

$$4. R_f = \frac{\text{jarak yang di tempuh}}{\text{jarak eluen}}$$

$$= \frac{2,6}{4,5}$$



$$= 0,57$$

$$\begin{aligned} 5. \quad R_f &= \frac{\text{jarak yang di tempuh}}{\text{jarak eluen}} \\ &= \frac{3,4}{4,5} \\ &= 0,75 \end{aligned}$$

H₂SO₄

$$\begin{aligned} 1. \quad R_f &= \frac{\text{jarak yang di tempuh}}{\text{jarak eluen}} \\ &= \frac{0,7}{4,5} \\ &= 0,15 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 2. \quad R_f &= \frac{\text{jarak yang di tempuh}}{\text{jarak eluen}} \\ &= \frac{1,4}{4,5} \\ &= 0,31 \end{aligned}$$

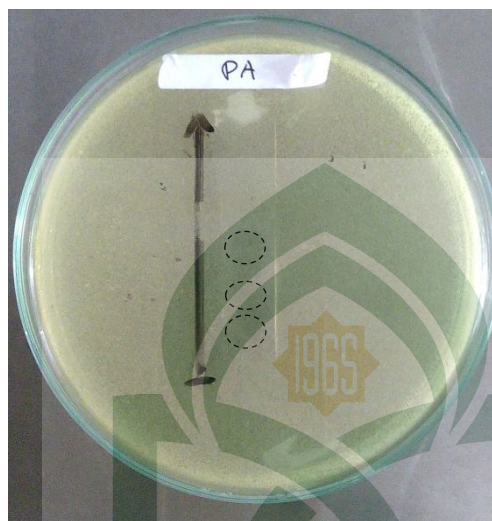
$$\begin{aligned} 3. \quad R_f &= \frac{\text{jarak yang di tempuh}}{\text{jarak eluen}} \\ &= \frac{2}{4,5} \\ &= 0,44 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 4. \quad R_f &= \frac{\text{jarak yang di tempuh}}{\text{jarak eluen}} \\ &= \frac{2,6}{4,5} \\ &= 0,57 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 5. \quad R_f &= \frac{\text{jarak yang di tempuh}}{\text{jarak eluen}} \\ &= \frac{3,2}{4,5} \\ &= 0,71 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 6. \quad R_f &= \frac{\text{jarak yang di tempuh}}{\text{jarak eluen}} \\
 &= \frac{4,3}{4,5} \\
 &= 0,95
 \end{aligned}$$

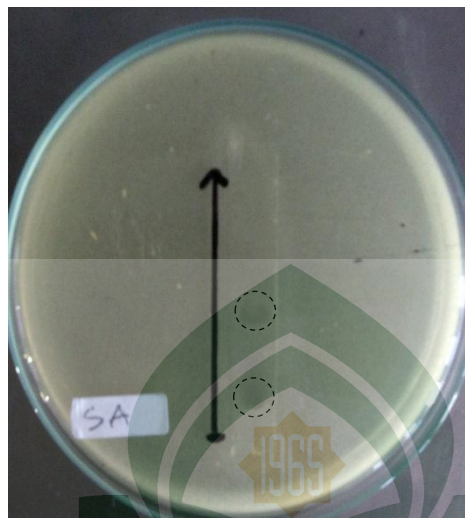
Lampiran 6. Hasil KLT-Bioautografi



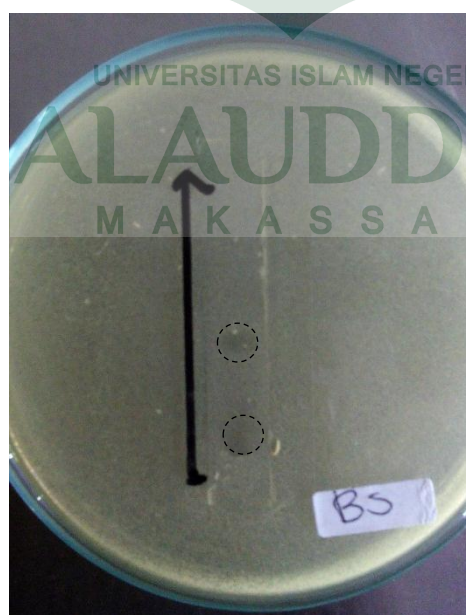
Gambar 6. Foto hasil pengujian KLT-Bioautografi ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum L*) pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa*



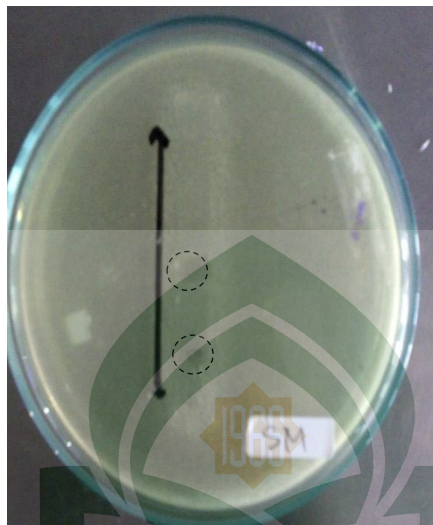
Gambar 7. Foto hasil pengujian KLT-Bioautografi ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum L*) pada bakteri *Vibrio sp*



Gambar 8. Foto hasil pengujian KLT-Bioautografi ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum L*) pada bakteri *Staphylococcus aureus*



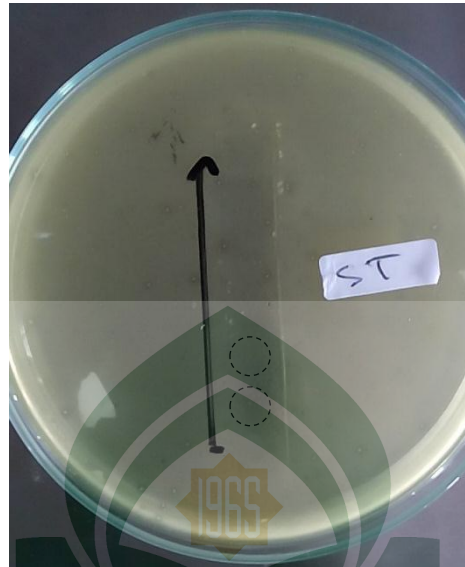
Gambar 9. Foto hasil pengujian KLT-Bioautografi ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum L*) pada bakteri *Bacillus subtilis*



Gambar 10. Foto hasil pengujian KLT-Bioautografi ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum L*) pada bakteri *Streptococcus muntans*



Gambar 11. Foto hasil pengujian KLT-Bioautografi ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum L*) pada bakteri *Echerichia coli*



Gambar 12. Foto hasil pengujian KLT-Bioautografi ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum L*) pada bakteri *Salmonella thyposa*

Lampiran 7. Identifikasi komponen kimia aktif



Gambar 13. Foto hasil identifikasi komponen kimia dengan pereaksi FeCl_3



Gambar 14. Foto hasil identifikasi komponen kimia dengan pereaksi AlCl_3



Gambar 15. Foto hasil identifikasi komponen kimia dengan pereaksi LB



UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
ALAUDDIN
M A K A S S A R

Gambar 16. Foto hasil identifikasi komponen kimia dengan pereaksi Dragen drof



Gambar 17. Foto hasil identifikasi komponen kimia dengan pereaksi KOH



Biografi



Agustianto lukman, lahir di tanah Luwu, kecamatan Bajo, Desa sampa, pada tanggal 8 agustus 1994. Merupakan anak kedua dari pasangan Drs. Lukman dan Suherah S.pd.

jenjang pendidikan dimulai dari SDN 37

Balabatu, kemudian SMP NEG 1 Bajo dan dilanjutkan di SMA NEG 1 Bajo.

Terdaftar sebagai mahasiswa Farmasi UIN Alauddin Makassar pada tahun 2012